

**Universidad Nacional
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Medicina Veterinaria**

Determinación de los perfiles de sensibilidad a antibióticos en bacterias del género *Campylobacter* spp. aisladas de pollo de engorde en tres puntos de la cadena avícola en Costa Rica

Modalidad: Tesis de grado

Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado Académico de Licenciatura en Medicina Veterinaria

Katherine Sabrina Lazo Láscarez

Tutora: María Laura Arias Echandi, MSc.

Lectora: Leana Zumbado Gutiérrez, MSc.

Lectora: Lohendy Muñoz Vargas, PhD.

Campus Presbítero Benjamín Núñez, Heredia

2018

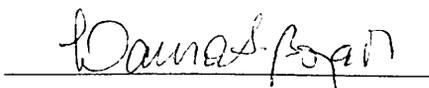
TRIBUNAL EXAMINADOR

Rafael Vindas Bolaños, Lic.



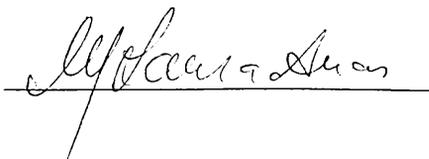
Decano Facultad de Ciencias de la Salud

Laura S. Bouza Mora, MSc.



Subdirectora Escuela de Medicina Veterinaria

María Laura Arias Echandi, MSc.



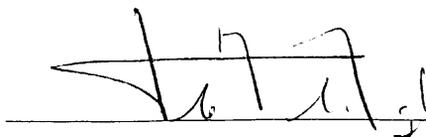
Tutora

Leana Zumbado Gutiérrez, MSc.



Lectora

Lohendy Muñoz Vargas, PhD.



Lectora

_____ 2018 _____

Fecha

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

Hace unos 22 años, cuando por primera vez expresé mis deseos de ser “doctora de animales”, dos personas decidieron dedicar su vida entera para conducirme por el camino que me traería hasta acá: mis papás. A ellos dos, Aracelly y José, que con mucho sacrificio siempre lograron inspirar el amor que tengo por la ciencia, mismo que hoy me tiene a las puertas de cumplir un sueño de vida: este trabajo y todo lo que pueda lograr de acá de adelante les pertenece. A mis hermanos de sangre, Chris, Bryan, Vale y Jordi, y mi hermano del alma, colega y mejor amigo, Esteban. Gracias por ser mi soporte, no me va a alcanzar la vida para retribuirles todo lo que han tenido que sacrificar para hacer esto posible.

También doy gracias infinitas a mi comité asesor. A la doctora María Laura, por haber estado siempre con las botas puestas durante el desarrollo de este trabajo. A la doctora Leana, por haber confiado en mí para llevar a cabo esta parte del proyecto y haberme dado la oportunidad de entrar a este mundo maravilloso de la inocuidad alimentaria. Y a la doctora Lohendy, por haberse convertido en mi ángel guardián desde el día que nos conocimos, por ser un modelo a seguir y haber trabajado conmigo hombro a hombro para materializar este proyecto. Al equipo de trabajo de los laboratorios de Bacteriología y Patología Aviar de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, por todo su apoyo técnico, por ser mi segunda familia y haberme hecho sentir siempre como en casa, mil gracias, siempre van a tener un pedacito de mi corazón. También agradezco al Programa de Medicina Poblacional por su colaboración durante la realización de este proyecto. A todos los compañeros, amigos y doctores, que no incluí acá pero que de una u otra manera me inspiraron y acompañaron durante este camino. Les estaré agradecida por siempre.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|--|------|
| TRIBUNAL EXAMINADOR..... | i |
| DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS | ii |
| ÍNDICE DE CONTENIDOS..... | iii |
| ÍNDICE DE CUADROS | v |
| ÍNDICE DE FIGURAS | vii |
| ABREVIATURAS | viii |
| RESUMEN | x |
| ABSTRACT | xii |
| | |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 1.1 Antecedentes..... | 1 |
| 1.1.1. Resistencia antimicrobiana..... | 1 |
| 1.1.2. <i>Campylobacter</i> spp..... | 4 |
| 1.1.3. <i>Campylobacter</i> spp. resistente a antibióticos | 6 |
| 1.2 Justificación | 8 |
| 1.3 Objetivos..... | 11 |
| 1.3.1. Objetivo general | 11 |
| 1.3.2. Objetivos específicos..... | 11 |
| | |
| 2. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 12 |

| | |
|---|----|
| 2.1. Procedencia de los aislamientos | 12 |
| 2.2. Procesamiento de las muestras..... | 12 |
| 2.3. Criterios de interpretación | 14 |
| 2.4. Análisis estadístico | 16 |
| 2.5. Definición de variables | 16 |
| 2.5.1. Variables independientes..... | 16 |
| 2.5.2. Variables dependientes..... | 16 |
| 3. RESULTADOS | 18 |
| 3.1. Aspectos generales..... | 17 |
| 3.2. Perfiles de sensibilidad por cada antibiótico..... | 19 |
| 3.3. Perfiles de sensibilidad por antibiótico, por punto de la cadena avícola | 21 |
| 3.4. Grado de resistencia..... | 26 |
| 3.5. Perfiles de sensibilidad por grupos de antibióticos | 29 |
| 3.6. Multirresistencia..... | 32 |
| 4. DISCUSION..... | 33 |
| 5. CONCLUSIONES..... | 52 |
| 6. RECOMENDACIONES | 54 |
| 7. FUENTES BIBLIOGRÁFICAS | 56 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Concentraciones de cada antibiótico que se incluyeron en el estudio..... | 13 |
| Cuadro 2. Valores de corte de CMI para <i>Campylobacter</i> spp..... | 15 |
| Cuadro 3. Resumen de medidas de asociación entre la procedencia de cepas de <i>Campylobacter</i> spp. y la no susceptibilidad a al menos uno de los seis antibióticos incluidos en el estudio (predictores: punto de la cadena avícola CC, CA y PV, respuesta: no susceptibilidad de las cepas a al menos uno de los antibióticos)..... | 19 |
| Cuadro 4. Frecuencia absoluta y relativa de susceptibilidad y no susceptibilidad ante seis antibióticos para 148 cepas de <i>Campylobacter</i> spp. aisladas de pollo de engorde de tres puntos de la cadena de producción avícola en Costa Rica..... | 20 |
| Cuadro 5. Frecuencia absoluta (%) de cepas de <i>Campylobacter</i> spp. clasificadas como no susceptibles de acuerdo con las categorías de Intermedio y Resistente según su sensibilidad (CMI) a seis antibióticos..... | 21 |
| Cuadro 6. Frecuencias absolutas y relativas de susceptibilidad y no susceptibilidad a seis antibióticos en 50 cepas de <i>Campylobacter</i> spp. procedentes del punto de la cadena avícola “granjas”..... | 22 |
| Cuadro 7. Frecuencias absolutas y relativas de susceptibilidad y no susceptibilidad a seis antibióticos en 55 cepas de <i>Campylobacter</i> spp. procedentes del punto de la cadena avícola “planta de procesamiento”..... | 23 |
| Cuadro 8. Frecuencias absolutas y relativas de susceptibilidad y no susceptibilidad a seis antibióticos en 43 cepas de <i>Campylobacter</i> spp. procedentes del punto de la cadena avícola “punto de venta”..... | 24 |
| Cuadro 9. Resumen de medidas de asociación entre el punto de la cadena avícola de procedencia de cepas de <i>Campylobacter</i> spp. y la no susceptibilidad a cada uno de los seis antibióticos incluidos en el estudio (predictores: punto de la cadena avícola CC, CA y PV, respuesta: no susceptibilidad)..... | 25 |
| Cuadro 10. Frecuencias absolutas (%) para cada grado de resistencia según la CMI en 148 cepas de <i>Campylobacter</i> spp. a los seis antibióticos incluidos en el estudio..... | 27 |

| | |
|--|----|
| Cuadro 11. Resumen de medidas de asociación entre el punto de..... | |
| la cadena avícola de procedencia de cepas de <i>Campylobacter</i> spp..... | |
| y el grado de resistencia a los seis antibióticos ensayados (predictores:..... | |
| punto de la cadena avícola CC, CA y PV, respuesta: grado de resistencia)..... | 28 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Porcentaje de cepas de <i>Campylobacter</i> spp. susceptibles a seis antibióticos y cepas no susceptibles a al menos uno de los..... seis antibióticos ensayados, según el punto de la cadena avícola de procedencia de los aislamientos..... | 18 |
| Figura 2. Porcentaje de cepas de <i>Campylobacter</i> spp. (N=148)..... susceptibles y no susceptibles a los cuatro grupos de antibióticos..... incluidos en el estudio..... | 29 |
| Figura 3. Frecuencia de los patrones de sensibilidad observados en cepas de <i>Campylobacter</i> spp. aisladas de tres puntos de la..... cadena avícola en Costa Rica..... | 30 |
| Figura 4. Frecuencia de los patrones de sensibilidad observados en las cepas de <i>Campylobacter</i> spp. no susceptibles a quinolonas..... aisladas de tres puntos de la cadena avícola en Costa Rica | 31 |

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ARN: Ácido ribonucleico

CA: Cepas procedentes de enjuagues de carcasa (plantas de procesamiento)

CAESAR: Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos en Asia Central y Europa Oriental

CC: Cepas procedentes de contenido cecal (granja)

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

CLSI: Clinical and Laboratory Standards

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria

DANMAP: Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme

EARS-Net: Red Europea de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos

ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control

EFSA: European Food Safety Authority

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

FDA: US Food and Drug Administration

FDA-NARMS: U.S. Food and Drug Administration - National Antimicrobial Resistance Monitoring System.

IC: Índice de confianza

ITFAR: Interagency Task Force on Antimicrobial Resistance

MFS: Síndrome de Miller Fisher

NARMS: National Antimicrobial Resistance Monitoring System for Enteric Bacteria

OIE: Organización Mundial de Sanidad Animal

OMS: Organización Mundial de Salud

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

PIB: Producto Interno Bruto

PV: Cepas procedentes de enjuagues de carcasa (puntos de venta)

QRDR: Región determinante de resistencia a quinolonas

ReLAVRA: Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos

RP: Relación de probabilidades

RPP: Proteína de protección ribosomal

SGB: Síndrome de Guillain-Barré

SII: Síndrome del intestino irritable

USD: Dólares americanos

RESUMEN

Campylobacter spp. es considerada la causa bacteriana más común de gastroenteritis humana, una de las cuatro principales causas de enfermedad diarreica a nivel mundial, y uno de los principales patógenos transmitidos por alimentos causantes de hospitalizaciones y muertes. En el año 2017, la Organización Mundial de Salud publicó la primera lista de patógenos prioritarios resistentes a los antibióticos, declarando a *Campylobacter* como un microorganismo de prioridad elevada.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar los perfiles de sensibilidad a seis antibióticos en cepas de *Campylobacter* spp. aisladas de pollo de engorde en tres puntos de la cadena de producción avícola, en Costa Rica. Un total de 148 cepas aisladas de pollo procedente de granjas, plantas de proceso y puntos de venta ubicados en las diferentes provincias del país fueron analizadas. Un ensayo de dilución en agar fue utilizado para determinar la CMI y los perfiles de sensibilidad de las cepas a seis antibióticos: doxiciclina, ciprofloxacina, ácido nalidíxico, enrofloxacina, cloranfenicol y eritromicina.

Aproximadamente el 92% (136/148) de las cepas analizadas mostró no susceptibilidad a alguno de los antibióticos en estudio. El ácido nalidíxico, la ciprofloxacina y la enrofloxacina, antibióticos del grupo de las quinolonas, presentaron no susceptibilidad con mayor frecuencia (91,22%, 85,81% y 85,81%, respectivamente); seguidos por la doxiciclina (25,00%), el cloranfenicol (5,41%) y la eritromicina (2,70%). El perfil de resistencia más comúnmente hallado fue el de no susceptibilidad únicamente a las quinolonas, y solamente un 2,03% de los aislamientos mostró no susceptibilidad a quinolonas y macrólidos de manera simultánea. No se halló ninguna cepa multirresistente.

Los resultados de esta investigación muestran una alta frecuencia de no susceptibilidad a los antibióticos en cepas de *Campylobacter* spp. La elevada prevalencia de este agente bacteriano en pollo destinado al consumo humano, sumada al alto consumo per cápita de este tipo de carne a nivel nacional, establecen las condiciones idóneas para la propagación de estas cepas hasta los consumidores.

Ante este escenario, la instauración de estrategias de vigilancia es fundamental para mitigar el impacto de este y otros microorganismos transmitidos por alimentos cuya resistencia a los agentes antimicrobianos es alta y constituyen una amenaza para la salud pública. El uso racional de los antibióticos, especialmente aquellos que aún muestran eficacia, debe ser un tema prioritario tanto en medicina humana como veterinaria, con el fin de contener el avance de este fenómeno y sus consecuencias.

ABSTRACT

Campylobacter spp. is considered the most common bacterial cause of human gastroenteritis, one of the four main causes of diarrheal disease worldwide, and one of the main foodborne pathogens causing hospitalizations and deaths. In 2017, the World Health Organization published the first list of priority pathogens resistant to antibiotics, declaring *Campylobacter* as a high priority microorganism.

This study aimed to determine the antimicrobial resistance profiles to six antibiotics in strains of *Campylobacter* spp. isolated from broiler chicken in three points of the poultry production chain, in Costa Rica. A total of 148 isolated strains of chicken from farms, processing plants and retail meat from different provinces of Costa Rica were analyzed. An agar dilution test was used to determine the MIC and resistance profiles of the strains against six antibiotics including doxycycline, ciprofloxacin, nalidixic acid, enrofloxacin, chloramphenicol and erythromycin.

Around 92% (136/148) of analyzed strains showed no susceptibility to the tested antibiotics. Nalidixic acid, ciprofloxacin and enrofloxacin, quinolone antimicrobials, were the antibiotics for which non-susceptibility occurred more frequently (91.22%, 85.81% and 85.81%, respectively); followed by doxycycline (25%), chloramphenicol (5.41%) and erythromycin (2.70%). The unique profile conferring only non-susceptibility to quinolones was the most commonly found in this study, and only 2.03% of the isolates showed no susceptibility to quinolones and macrolides simultaneously. No multiresistant strain was found.

The results presented herein show a high frequency of non-susceptible strains of *Campylobacter* spp. The high prevalence of this bacterial agent in chicken intended for human consumption,

added to the high per capita consumption of this type of meat at the national level, establishes the ideal conditions for propagation of resistant strains to consumers constituting an important threat to public health. Given this scenario, the establishment and improvement of surveillance strategies at national level represents an essential tool for disease control and foodborne diseases mitigation. The rational use of antibiotics, especially those that still show efficacy, should be a priority issue in both human and veterinary medicine in order to contain the progress of this phenomenon and its consequences.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

1.1.1. Resistencia antimicrobiana

Los fármacos antimicrobianos cumplen un rol fundamental en el tratamiento de enfermedades, tanto en seres humanos, como en animales y plantas, por lo que la aparición de microorganismos resistentes pone en riesgo la salud pública y veterinaria (FAO 2016). La Organización Mundial de Salud (OMS) define la resistencia a antimicrobianos como “la capacidad que tienen los microorganismos (bacterias, virus, hongos y algunos parásitos) de impedir que los antimicrobianos (como antibióticos, antivíricos, antifúngicos y antipalúdicos) actúen contra ellos” (OMS 2016), por lo que, como resultado, los tratamientos habituales se vuelven ineficaces, las infecciones persisten y pueden transmitirse a otros individuos. La resistencia antimicrobiana no es un fenómeno nuevo; sin embargo, la amplia magnitud del problema, y la velocidad con la que nuevos genes y mecanismos de resistencia han emergido y diseminado, eleva la significancia de esta amenaza (ITFAR 2011).

A pesar de que la resistencia antimicrobiana puede ocurrir de forma natural a través de la adaptación microbiana al medio ambiente, existen una serie de factores que han contribuido a agudizar este problema. La deficiente regulación y carencia de un sistema de vigilancia activo y constante sobre el uso de antimicrobianos por parte de las autoridades sanitarias, el uso inadecuado de estos fármacos (prescripción inapropiada, empleo no terapéutico o seguimiento poco minucioso de los tratamientos), y la disponibilidad de medicamentos adulterados o de mala calidad, son algunas de las principales causas asociadas con el rápido avance de este fenómeno (Ventola 2015; FAO 2016).

Las principales consecuencias de la resistencia antimicrobiana se relacionan con la reducción de la eficacia de los fármacos antivirales, antifúngicos, antiparasitarios y antibacterianos. Como resultado, el tratamiento de los pacientes se vuelve difícil, económicamente costoso, y en algunos casos, inviable (OMS 2016). El impacto sobre los individuos vulnerables es más evidente, traduciéndose en un aumento en la mortalidad y cuadros clínicos prolongados (Okeke et al. 2005; OMS 2016), lo cual puede incrementar los costos de tratamientos entre US\$ 6.000-30.000 (Maragakis et al. 2008). Como consecuencia se estima que, cada año, aproximadamente 700.000 personas mueren a causa de agentes resistentes a los antimicrobianos a nivel mundial (O'Neil 2014).

En la actualidad, la resistencia de las bacterias a los antibióticos constituye una de las principales amenazas para la salud pública, la seguridad alimentaria, y el desarrollo social a nivel global (OMS 2016). Cuando las opciones de tratamiento antibiótico de primera y segunda línea están limitadas por la resistencia o no están disponibles, los proveedores de atención médica se ven obligados a usar antibióticos que pueden ser más tóxicos para el paciente y con frecuencia más caros y menos eficaces (CDC 2013). Solamente en los Estados Unidos de América, por lo menos dos millones de personas adquieren graves infecciones por bacterias resistentes a los antibióticos diseñados para combatirlos; y por lo menos 23.000 personas mueren cada año como consecuencia directa de las mismas (CDC 2013). En Europa, el número de muertes provocadas por bacterias resistentes a los antibióticos es similar, con un estimado de 25.000 muertes anuales causadas por este tipo de patógenos (ECDC 2009). La rápida velocidad con que evolucionan estos microorganismos, aunada al paso lento con que se desarrollan nuevos fármacos para combatirlos, el uso creciente de antibióticos en diversos campos y su manejo inadecuado, proporcionan un

escenario ideal para la propagación descontrolada de estos patógenos resistentes (O' Neil 2014; FAO 2016).

Ante estas circunstancias, las autoridades sanitarias a nivel mundial están dirigiendo sus esfuerzos hacia la determinación del alcance del problema, con el fin de formular y supervisar una respuesta efectiva a la resistencia antimicrobiana (OMS 2016). En marzo del año 2015, la 68ª Asamblea Mundial de la Salud de la OMS adoptó el Plan de Acción Mundial sobre la Resistencia a los Antimicrobianos, con el objetivo de garantizar, a largo plazo, el acceso universal a fármacos eficaces y seguros para la prevención y el tratamiento de infecciones (OMS 2015).

Además, existen programas de vigilancia regionales, como el de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos en Asia Central y Europa Oriental (CAESAR), la Red Europea de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (EARS-Net) o la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA), con los que se viene siguiendo de cerca las resistencias antimicrobianas en distintas zonas geográficas (OMS 2017). Adicionalmente, se espera que los países desarrollen sus propios planes de acción nacionales sobre la resistencia a los antimicrobianos en consonancia con el plan mundial (OMS 2015).

En el campo de la seguridad alimentaria, la OMS, en colaboración con la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), publicó un documento con el fin de orientar a las autoridades de salud de cada país miembro en el monitoreo de bacterias transmitidas por alimentos que sean resistentes a los antibióticos. *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* y *Enterococcus* spp., son algunos de los microorganismos que dichas organizaciones recomiendan incluir en un plan de vigilancia nacional de este tipo (OMS et al. 2017).

1.1.2. *Campylobacter* spp.

El género *Campylobacter* comprende 27 especies y ocho subespecies (Ngulukun 2016), de las cuales una gran mayoría son capaces de causar la enfermedad llamada campilobacteriosis en seres humanos (Backert et al. 2016). Esta se considera la causa bacteriana más común de gastroenteritis humana, una de las cuatro principales causas de enfermedad diarreica a nivel mundial, y uno de los principales patógenos transmitidos por alimentos causantes de hospitalizaciones y muertes (Scallan et al. 2011; OMS 2017). *Campylobacter jejuni* (subespecie *jejuni*) y *Campylobacter coli* son las representantes de este género que se aíslan con mayor frecuencia en enfermedades humanas.

En pacientes con enfermedades diarreicas también se han aislado con menor frecuencia otras especies, tales como *Campylobacter lari* y *Campylobacter upsaliensis* (OMS 2017). Junto con *Salmonella*, la campilobacteriosis constituyó la enfermedad bacteriana de transmisión alimentaria más comúnmente reportada en el año 2016 en los Estados Unidos, según datos del Informe Semanal de Morbilidad y Mortalidad del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC 2017). Adicionalmente, con más de 190.000 casos reportados en humanos anualmente en la Unión Europea, constituye la enfermedad de transmisión alimentaria más comúnmente reportada en esta región (EFSA 2014).

En la actualidad existe evidencia que sugiere que ha habido un aumento en la incidencia global de campilobacteriosis en la última década; el número de casos ha aumentado en América del Norte, Europa y Australia. Y aunque los datos epidemiológicos de África, Asia y Medio Oriente siguen siendo incompletos, estos indican que la infección por *Campylobacter* es endémica en estas regiones (Kaakoush et al. 2015).

En América del Sur, gracias a su amplia diseminación y a los deficientes esfuerzos de las autoridades de salud para combatir el problema, *Campylobacter* constituye una de las causas más importantes de diarreas. En América Central, mientras tanto, el impacto de este patógeno sobre la salud pública no está bien dimensionado (Fernández 2011; Kaakoush et al. 2015). En la actualidad, a pesar de que muchos enfoques están siendo utilizados para estimar la incidencia real de gastroenteritis por *Campylobacter* spp., este dato sigue siendo desconocido (OMS 2013).

Los síntomas usuales de la campilobacteriosis incluyen fiebre, diarrea y calambres abdominales (EFSA 2014). Adicionalmente, una infección aguda con este agente puede tener graves consecuencias a largo plazo, incluyendo las neuropatías periféricas, el síndrome de Guillain-Barré (SGB) y el síndrome de Miller Fisher (MFS), además de enfermedades funcionales del intestino, como el síndrome del intestino irritable (SII) (OMS 2013). También se ha reportado que estas bacterias están involucradas en manifestaciones extragastrointestinales, incluyendo bacteremia, infecciones pulmonares, abscesos cerebrales, meningitis y artritis reactiva, en casos individuales y pequeñas cohortes de pacientes (Man 2011).

Campylobacter es un agente que normalmente se transmite a través de los alimentos, con frecuencia la carne cruda de aves de corral es contaminada con estos microorganismos, dado que estas bacterias pueden vivir en los intestinos de animales sanos (Silva et al. 2011). También es posible encontrar este agente en cerdos y ganado. Así, comer carne de pollo mal cocida, o alimentos listos para comer que han estado en contacto con pollo crudo es la fuente más común de infección (EFSA 2014).

La mayoría de las infecciones por *Campylobacter* no requieren intervención terapéutica, dado que son autolimitantes (Smith and Fratámico 2010). Sin embargo, existen circunstancias clínicas

específicas en las que el uso de antibióticos está indicado; estas incluyen fiebres altas, heces sanguinolentas, cuadros prolongados, e infecciones en pacientes inmunocomprometidos (Allos 2001; Olson et al. 2008).

1.1.3. *Campylobacter* spp. resistente a antibióticos

Las ciprofloxacina es un antibiótico del grupo de las fluoroquinolonas que ha sido ampliamente utilizado para el tratamiento de gastroenteritis (Kaakoush et al. 2015). La eficacia de este grupo de fármacos para controlar agentes como *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp. y *Campylobacter* spp., además de su capacidad para alcanzar altas concentraciones a nivel local, posicionaron a las fluoroquinolonas como fármacos de elección para el tratamiento de gastroenteritis bacterianas en la década de 1980 (Goossens et al. 1985; Segreti et al. 1989). Sin embargo, como consecuencia de la rápida aparición y propagación de cepas de *Campylobacter* resistentes a las fluoroquinolonas en la década de los 90, los macrólidos se posicionaron como los fármacos de elección para tratar casos graves de campilobacteriosis (Endtz et al. 1991; Allos 2001).

El desarrollo de resistencia a las quinolonas en *Campylobacter* se ha relacionado con el inicio del uso de la enrofloxacin, una fluoroquinolona o quinolona de tercera generación, en los piensos para animales en diversos países de Asia y Europa, y la aprobación de su uso en medicina veterinaria a comienzos de la década de los 90 (Endz et. al 1991; Allos 2001). No obstante, desde hace algunos años, se observa una tendencia creciente en la resistencia a macrólidos en cepas de *Campylobacter* spp., especialmente a la eritromicina, la azitromicina y la clindamicina (Luangtonkum et al. 2009), constituyéndose el aislamiento de estas cepas resistentes, tanto de

origen animal como de origen humano, en un serio problema de salud pública en algunos países (Vlieghe et al. 2008; Wieczorek and Osek 2013).

Dada la amplia distribución de cepas resistentes a fluoroquinolonas, el uso de macrólidos para el tratamiento de estas infecciones se tornó fundamental, aumentando considerablemente su uso e influyendo en el desarrollo de resistencia a estos fármacos (Wieczorek and Osek 2013).

En la actualidad, el uso alternativo de otros antibióticos en el tratamiento de la campilobacteriosis y su empleo en animales de producción, han favorecido además el desarrollo y la propagación de cepas de *Campylobacter* spp. resistentes a aminoglicósidos y tetraciclinas (Wozniak et al. 2016).

Si bien existen múltiples estudios al respecto, la frecuencia de aislamiento de cepas de *Campylobacter* resistentes a antibióticos es altamente heterogénea, con datos de estudios de países como Noruega que reportan bajos niveles de resistencia a oxitetraciclina (1,3%) y nulos para fluoroquinolonas, en cepas aisladas de pollos de engorde (Norström et al. 2007); que se contraponen a los de un estudio en China, donde más de un 98% de las cepas aisladas de estos animales resultaron resistentes a quinolonas y/o tetraciclinas (Chen et al. 2010).

También se han llevado a cabo estudios en cepas de origen humano. Por ejemplo, un estudio realizado en Bélgica en viajeros provenientes de distintas latitudes reportó resistencia a macrólidos y/o fluoroquinolonas en un 70,5%, 60,6% y 30,6% de las muestras de viajeros provenientes de Asia, Latinoamérica y África, respectivamente (Vlieghe et al. 2008).

Según reportes del CDC, el número de infecciones por *Campylobacter* resistente a antibióticos en los Estados Unidos asciende a 310.000 anualmente, con un total de 13.000 hospitalizaciones y 120 muertes. Adicionalmente, entre los años 2009 y 2011, un 23% y un 2% de todos los

aislamientos de *Campylobacter* en dicho país resultaron resistentes a la ciprofloxacina y la azitromicina, respectivamente (CDC 2013).

1.2. Justificación

A pesar de la falta de datos acerca del comportamiento de los patógenos resistentes en diversas regiones geográficas, existen estimaciones acerca del costo económico y humano que la resistencia antimicrobiana podría representar en un futuro si no se toman acciones para combatirla. De no tomar acciones para mitigar su impacto, para el año 2050, se estima que unos diez millones de personas morirán anualmente como consecuencia de infecciones con microorganismos resistentes a nivel mundial. Esto representaría un costo económico de 100 billones USD y una reducción en el PIB de entre un 2% y un 3,5% en el mundo (Taylor et al. 2014).

Ante el hallazgo creciente de organismos resistentes, en el año 2013, el CDC publicó un reporte con los agentes microbianos que constituían algún tipo de amenaza para la salud pública estadounidense. En dicho reporte, los microorganismos fueron categorizados en tres niveles de peligrosidad: “urgente” (nivel más alto de peligrosidad), “serio” (nivel intermedio) y “preocupante” (amenaza más baja). *Campylobacter* spp. resistente a antibióticos fue categorizado en dicho reporte como un microorganismo de peligrosidad “seria” (intermedio), demandándose así una acción rápida y sostenida con el fin de evitar el crecimiento del problema (CDC 2013).

Cuatro años más tarde, la OMS publicó la primera lista de patógenos prioritarios resistentes a los antibióticos, categorizándolos, al igual que el CDC, según su orden de prioridad (crítica, elevada

y media). En este reporte, *Campylobacter* spp. resistente a las fluoroquinolonas fue categorizado como un patógeno de prioridad elevada (OMS 2017).

En cuanto a salud pública veterinaria, el Código Sanitario para los Animales Terrestres, elaborado y publicado por la OIE, es un documento en el que se establece la normativa para mejorar la “sanidad y el bienestar de los animales terrestres y la sanidad pública veterinaria en el mundo” (OIE 2017), y sus disposiciones rigen el comercio de animales terrestres y productos originados de los mismos. En dicho código, que establece las pautas para la instauración de programas de vigilancia de los microorganismos resistentes asociados a los animales destinados al consumo humano y sus productos, *Campylobacter* figura como uno de los agentes zoonóticos que deberían ser monitoreados, principalmente en productos derivados de aves de corral. El aislamiento, la identificación bacteriana hasta nivel de especie y la realización de antibiogramas son parte de los procedimientos que deben realizarse en el contexto de dichos programas (OIE 2017).

En Costa Rica, la presencia de *Campylobacter* ha sido ocasionalmente estudiada y reportada; en 1987 se estudió la presencia de este agente en pollo fresco en expendios, reportando una frecuencia del 63,0% (Antillón et al. 1987). Posteriormente, un estudio transversal en muestras de pollo de tres niveles de la cadena avícola (granja, planta de proceso y punto de venta), reveló una prevalencia de *Campylobacter* spp. en 59,37% (N= 352) de las muestras a nivel nacional (Zumbado 2016).

En cuanto a la resistencia a los antibióticos, en el año 1984 se evaluó la sensibilidad de 81 cepas de *C. jejuni* provenientes de niños con diarrea a tres de estos fármacos: gentamicina, eritromicina y ampicilina (Rodríguez et al. 1984). En dicho estudio, un 11% de las cepas mostró resistencia a

la eritromicina y un 2% mostró resistencia a la ampicilina, mientras que en ninguna de las cepas evaluadas se reportó resistencia a la gentamicina. Sin embargo, no existen estudios a nivel nacional acerca de la sensibilidad de *Campylobacter* spp. a los antibióticos que en la actualidad se utilizan para tratar infecciones en humanos con este agente.

Además de la alta prevalencia de este agente y la escasez de estudios recientes, existe un factor que hace de *Campylobacter* un microorganismo de estudio urgente en el territorio nacional: el alto consumo de pollo en el país. Este representa uno de los más elevados de la región, con un consumo per cápita de más de 23 kg anuales de productos y subproductos de la cadena avícola, superando en este rubro al resto de países de Centroamérica (Wright 2010). Dado este escenario, tanto a nivel nacional como a nivel global, una intervención inmediata es necesaria no solo para determinar las características de *Campylobacter* en relación con la resistencia a los antibióticos, sino también para establecer medidas correctivas y de prevención que permitan eludir mayores inconvenientes en un futuro.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

1.3.1.1. Determinar los perfiles de sensibilidad a seis antibióticos en cepas del género *Campylobacter* aisladas de pollo de engorde en tres puntos de la cadena de producción avícola, en Costa Rica.

1.3.2. Objetivos específicos

1.3.2.1. Identificar las cepas bacterianas del género *Campylobacter* no susceptibles a los diferentes antibióticos en estudio.

1.3.2.2. Determinar las frecuencias de la susceptibilidad, la multirresistencia, y el grado de resistencia a los antibióticos en las cepas aisladas en cada uno de los tres puntos de la cadena de producción avícola.

1.3.2.3. Medir la relación entre la susceptibilidad, la multirresistencia y el grado de resistencia en las cepas analizadas, y la procedencia del aislamiento.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Procedencia de los aislamientos

Se caracterizó la susceptibilidad antimicrobiana de un total de 148 aislamientos de *Campylobacter* spp. (n= 122 *C. jejuni*, n=10 *C. coli*, n= 16 *Campylobacter* spp.), obtenidos como parte del estudio titulado “*Prevalencia y especies de Campylobacter spp. en pollo de engorde, confirmados mediante PCR, y factores asociados a la contaminación por esta bacteria en tres niveles de la cadena avícola de Costa Rica*” (Zumbado 2016). Dichos aislamientos fueron obtenidos a nivel nacional entre los meses de marzo y julio del año 2015.

Las muestras fueron colectadas a partir de contenido cecal (CC) de aves procedentes de diversas granjas (n= 50), enjuagues de carcasa en plantas de procesamiento (CA) (n= 55) y enjuague de carcasas adquiridas en puntos de venta (PV) (n=43). Todos los aislamientos fueron analizados mediante cultivo microbiológico y PCR especie específico, y posteriormente almacenados a -80 °C en el Laboratorio de Bacteriología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

2.2. Procesamiento de las muestras

Las cepas estudiadas, que habían sido previamente identificadas y congeladas, fueron cultivadas en agar sangre (agar base con un 5% de sangre ovina o equina), e incubadas a una temperatura de 37°C durante 48 horas, bajo condiciones de microaerofilia (10% CO₂, 5% O₂, 85% N₂) (Farace and Viñas 2007). Un segundo cultivo se realizó a partir de los crecimientos iniciales de cada cepa, con el fin de asegurar un desarrollo bacteriano óptimo en los cultivos frescos que se utilizaron para el ensayo de sensibilidad. Este segundo cultivo, o “repique”, se realizó bajo las mismas condiciones que el primero.

Los perfiles de sensibilidad a antibióticos se determinaron bajo la técnica de dilución en agar, tal como se describe en el documento VET01A4, publicado por el Clinical and Laboratory Standards (CLSI, 2013). Para ello se prepararon medios de cultivo con diferentes concentraciones del antibiótico a ensayar.

Posteriormente, las cepas a evaluar fueron inoculadas en cada uno de los medios preparados, siguiendo una incubación según los requerimientos del agente. Finalmente, cada placa fue evaluada para determinar el crecimiento de cada cepa, con el objetivo de definir la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

En el presente estudio se incluyeron los siguientes antibióticos: eritromicina, ácido nalidíxico, ciprofloxacina, enrofloxacina, doxiciclina y cloranfenicol; en cinco concentraciones diferentes, utilizando diluciones seriadas en un logaritmo de base 2, tal como se indica en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Concentraciones de cada antibiótico que se incluyeron en el estudio.

| Grupo | Antibiótico | Concentración (µg/mL) | | | | |
|---------------|------------------|-----------------------|-------|-------|-------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Macrólidos | Eritromicina | 4,00 | 8,00 | 16,00 | 32,00 | 64,00 |
| Quinolonas | Ciprofloxacina | 0,50 | 1,00 | 2,00 | 4,00 | 8,00 |
| | Enrofloxacina | 0,25 | 0,50 | 1,00 | 2,00 | 4,00 |
| | Ácido nalidíxico | 8,00 | 16,00 | 32,00 | 64,00 | 128,00 |
| Tetraciclinas | Doxiciclina | 1,00 | 2,00 | 4,00 | 8,00 | 16,00 |
| Fenicoles | Cloranfenicol | 4,00 | 8,00 | 16,00 | 32,00 | 64,00 |

La selección de las concentraciones a ensayar se realizó tomando en cuenta los valores de corte de CMI previamente establecidos para cada antibiótico (CLSI 2008; FDA 2011; CLSI 2015).

Para la prueba de sensibilidad se utilizó una base de agar Müller-Hinton suplementado con un 5% de sangre ovina desfibrinada. La preparación de los medios de cultivo se llevó a cabo siguiendo los lineamientos descritos en el documento VET01A4 (CLSI 2013).

Un total de 31 placas, una placa por cada antibiótico, a cada una de las concentraciones indicadas en el Cuadro 1, y una placa adicional de control (sin antibióticos), fueron preparadas por cada ensayo, inoculando entre 15 y 20 cepas en cada placa. Se requirió de diez ensayos para evaluar todas las cepas en estudio. Una vez inoculadas, las placas se incubaron durante 48 horas, a 37 °C, bajo condiciones de microaerofilia (CLSI 2015). Transcurrido este periodo, se evaluó el crecimiento de cada cepa en cada una de las placas.

Como parte de los controles establecidos para esta técnica, se utilizó la cepa de referencia *Campylobacter jejuni* ATCC 33560, según los rangos fijados en el documento VET01-S3 (CLSI 2015). Además, una placa con agar Müller-Hinton sin agentes antimicrobianos añadidos fue utilizada como control de crecimiento positivo.

2.3 Criterios de interpretación

La CMI en cada una de las cepas en estudio se definió como la concentración de antibiótico (en µg/mL) de la menor dilución que inhibió completamente el desarrollo bacteriano (CLSI 2013).

Una vez obtenidos los valores para cada uno de los aislamientos, los resultados se cotejaron con los establecidos en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Valores de corte de CMI para *Campylobacter* spp.

| Antibiótico | Referencia | Criterios de interpretación CMI's (µg/ml) | | |
|------------------|----------------------------------|---|------------|-----------------|
| | | Susceptibles | | No susceptibles |
| | | Susceptible | Intermedio | Resistente |
| Eritromicina | CLSI, M45 (2015) ^a | ≤ 8 | 16 | ≥32 |
| Ciprofloxacina | CLSI, M45 (2015) ^a | ≤ 1 | 2 | ≥ 4 |
| Doxiciclina | CLSI, M45 (2015) ^a | ≤2 | 4 | ≥8 |
| Ácido nalidíxico | FDA, NARMS (2011) ^b | ≤16 | 32 | ≥ 64 |
| Enrofloxacinac | CLSI, M31-A3 (2008) ^a | <0,5 | 0,5-1 | ≥ 2 |
| Cloranfenicol | FDA, NARMS (2011) ^b | ≤8 | 16 | ≥32 |

^a Clinical and Laboratory Standards Institute, ^b U.S Food and Drug Administration.

^c Dado que no existe un valor de referencia para este agente en *Campylobacter* spp, se utilizará el punto de corte establecido para patógenos veterinarios según el documento M31-A3 (CLSI 2008), que coincide con el utilizado por diversos autores (Aarestrup et al. 1997; Inglis et al. 2010; Shin et al. 2015).

Para el análisis de los perfiles de sensibilidad, las cepas fueron clasificadas como *Susceptibles* y *No Susceptibles* (cepas de las categorías *Intermedio* y *Resistente*). Esta clasificación responde a que las cepas en la categoría *Intermedio* presentan una CMI por encima del límite requerido para ser consideradas susceptibles, es decir, podrían no responder adecuadamente a un tratamiento antibiótico en las condiciones terapéuticas usuales (CLSI 2013).

Aquellas cepas que fueron clasificadas como *No susceptibles* para un antibiótico, resultaron clasificadas como *No susceptibles* para el grupo de antibióticos al que pertenece dicho fármaco. Asimismo, aquellas cepas que fueron clasificadas como *Resistentes* a tres o más grupos de antibióticos según su CMI fueron consideradas *Multirresistentes* (NARMS 2016).

2.4. Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico descriptivo, orientado a determinar medidas de frecuencia de susceptibilidad y no susceptibilidad, la presencia de cepas multirresistentes y el grado de resistencia en los diferentes eslabones de la cadena avícola en Costa Rica. Adicionalmente, se midió la relación entre dichas variables (variables dependientes) y la procedencia de los aislamientos (variable independiente), calculando medidas de asociación como Chi cuadrado y la relación de probabilidades, mediante tablas de contingencia (kx3), utilizando para este fin el software Minitab®.

Para su interpretación, se estableció como valor umbral de significancia (α) el 5%, además la no inclusión del valor 1 en el intervalo de confianza al 95%. Un valor $p < 0.05$ fue considerado significativo.

2.5 Definición de variables

2.5.1. Variables independientes:

Procedencia: Variable cualitativa nominal. Punto de la cadena avícola en que fue colectada la muestra de donde fue aislada la cepa: “granja”, “planta de procesamiento” y “punto de venta”.

2.5.2. Variables dependientes:

Susceptibilidad: Variable cualitativa dicotómica. Cepa clasificada como “susceptible” o “no susceptible” según el valor de corte de CMI, para cada antibiótico.

Multirresistencia: Variable cualitativa dicotómica. Cepa clasificada como “multirresistente” (resistente a tres o más grupos de antibióticos) o “no multirresistente” (resistente a menos de tres grupos de antibióticos).

Grado de resistencia: Variable cuantitativa discreta. Concentración mínima inhibitoria (en $\mu\text{g/mL}$) para cada cepa, para cada uno de los antibióticos en estudio.

3. RESULTADOS

3.1. Aspectos generales

Los perfiles de sensibilidad obtenidos mostraron susceptibilidad a los seis antibióticos incluidos en el estudio en un 8,11% (12/148, IC 95% 4,26%-13,73%) de las cepas, mientras que un 91,89% (136/148, IC 95% 86,27%-95,74%) resultó no susceptible a al menos uno de los antibióticos ensayados.

La distribución de las cepas clasificadas como no susceptibles a al menos uno de los antibióticos, según la procedencia del aislamiento, se muestra en la Figura 1.

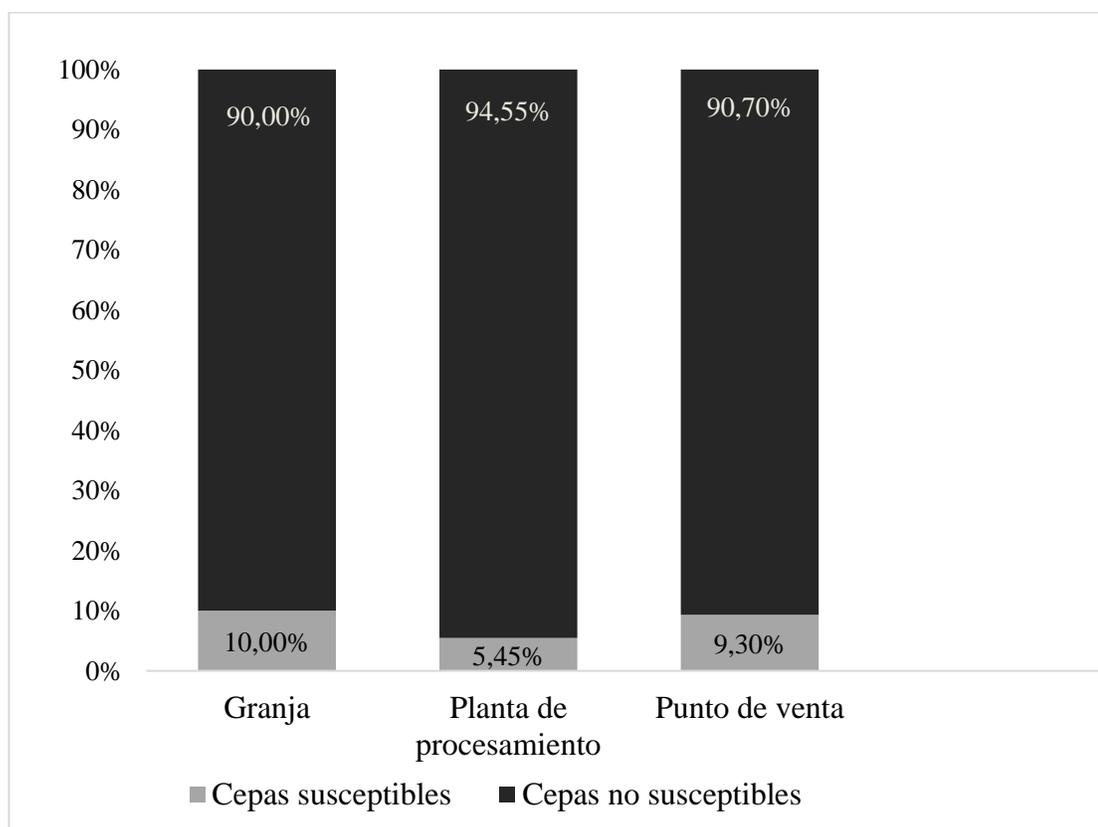


Figura 1. Porcentaje de cepas de *Campylobacter* spp. susceptibles a seis antibióticos y cepas no susceptibles a al menos uno de los seis antibióticos ensayados, según el punto de la cadena avícola de procedencia de los aislamientos.

La prevalencia de no susceptibilidad en las cepas procedentes de granjas fue de un 90,00% (45/50, IC 95% 78,19%-96,67%), en los aislamientos obtenidos de pollo de plantas de procesamiento fue de un 94,55% (52/55, IC 95% 84,88%-98,86%), mientras que en aquellas cepas provenientes de pollo de punto de venta dicho valor fue de 90,70% (39/43, IC 95% 77,86%-97,41%).

Adicionalmente, no se halló ninguna asociación entre la no susceptibilidad de las cepas a al menos uno de los antibióticos incluidos y su procedencia según el punto de la cadena avícola (Cuadro 3).

Cuadro 3. Resumen de medidas de asociación entre la procedencia de cepas de *Campylobacter* spp. y la no susceptibilidad a al menos uno de los seis antibióticos incluidos en el estudio (predictores: punto de la cadena avícola CC, CA y PV, respuesta: no susceptibilidad de las cepas a al menos uno de los antibióticos).

| Punto de la cadena avícola ^{1,2} | | Relación de probabilidades | IC 95% | Valor de <i>p</i> |
|---|----|----------------------------|---------------|-------------------|
| A | B | | | |
| CC | CA | 0,5192 | 0,1175-2,2945 | 0,379 |
| PV | CA | 0,5626 | 0,1190-2,6594 | 0,465 |
| PV | CC | 1,0833 | 0,2717-4,3188 | 0,910 |

¹ CC: Granja, CA: Planta de procesamiento, PV: Punto de venta.

² Resultados punto A respecto a punto B.

3.2. Perfiles de sensibilidad por cada antibiótico

Los perfiles de sensibilidad obtenidos evidenciaron la presencia de cepas no susceptibles a cada uno de los antibióticos ensayados. Dicha información se resume en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Frecuencia absoluta y relativa de susceptibilidad y no susceptibilidad ante seis antibióticos para 148 cepas de *Campylobacter* spp. aisladas de pollo de engorde de tres puntos de la cadena de producción avícola en Costa Rica.

| Antibiótico | n cepas susceptibles | % (IC 95%) | n cepas no susceptibles | % (IC 95%) |
|--------------------|-----------------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------|
| Eritromicina | 144 | 97,30 (93,22-99,26) | 4 | 2,70 (0,74-6,78) |
| Ciprofloxacina | 21 | 14,19 (9,00-20,87) | 127 | 85,81 (79,13-90,99) |
| Enrofloxacina | 21 | 14,19 (9,00-20,87) | 127 | 85,81 (79,13-90,99) |
| Ácido nalidíxico | 13 | 8,78 (4,76-14,55) | 135 | 91,22 (85,45-95,24) |
| Doxiciclina | 111 | 75,00 (67,22-81,75) | 37 | 25,00 (18,25-32,77) |
| Cloranfenicol | 140 | 94,59 (89,63-97,64) | 8 | 5,41 (2,36-10,37) |

La mayoría de las cepas evaluadas resultaron susceptibles a la eritromicina, la doxiciclina y el cloranfenicol, con una prevalencia de no susceptibilidad a dichos antibióticos de un 2,70%, 25,00% y 5,41% respectivamente. Por otra parte, la mayor parte de las cepas evaluadas fueron clasificadas como no susceptibles a la ciprofloxacina, la enrofloxacina y el ácido nalidíxico, con un porcentaje de 85,81%, 85,81% y 91,22% de no susceptibilidad, respectivamente.

El número total de cepas clasificadas como no susceptibles a cada uno de los antibióticos está dado por la suma de las cepas clasificadas en las categorías *Resistente* e *Intermedio*. El número de cepas correspondientes a dichas categorías, por cada uno de los antibióticos ensayados, se resume en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Frecuencia absoluta (%) de cepas de *Campylobacter* spp. clasificadas como no susceptibles de acuerdo con las categorías de Intermedio y Resistente según su sensibilidad (CMI) a seis antibióticos.

| Antibiótico | n cepas | | N (% de 148) |
|------------------|----------------|----------------|-----------------|
| | Intermedio (%) | Resistente (%) | |
| Eritromicina | 3 (2,02) | 1 (0,68) | 4 (2,70) |
| Ciprofloxacina | 1 (0,78) | 126 (85,14) | 127 (85,81) |
| Enrofloxacina | 0 (0,00) | 127 (85,81) | 127 (85,81) |
| Ácido nalidíxico | 1 (0,68) | 134 (90,54) | 135 (91,22) |
| Doxiciclina | 3 (2,03) | 34 (22,97) | 37 (25,00) |
| Cloranfenicol | 8 (5,41) | 0 (0,00) | 8 (5,41) |

Para cuatro de los antibióticos (ciprofloxacina, enrofloxacina, ácido nalidíxico y doxiciclina), la mayor parte de las cepas clasificadas como no susceptibles correspondió a cepas resistentes. En el caso de la eritromicina, se halló un mayor número de cepas intermedias que de cepas resistentes. Finalmente, para el cloranfenicol, todas las cepas no susceptibles correspondieron a cepas de la categoría *Intermedio*.

3.3. Perfiles de sensibilidad por antibiótico, por punto de la cadena avícola

La mayor parte de las cepas procedentes de contenido cecal de aves, correspondiente al punto de la cadena avícola “granjas”, mostró susceptibilidad a la eritromicina, la doxiciclina y el cloranfenicol, con una prevalencia de no susceptibilidad del 4,00%, 28,00% y 2,00% respectivamente. Por otra parte, la mayoría de las cepas procedentes del mismo punto resultaron no susceptibles a la ciprofloxacina, observándose esta característica en un 80,00% de los aislamientos, a la enrofloxacina, con un 82,00% de cepas no susceptibles, y el ácido nalidíxico,

con un 90,00%. El Cuadro 6 muestra las frecuencias relativas de susceptibilidad a cada antibiótico en dichos aislamientos.

Cuadro 6. Frecuencias absolutas y relativas de susceptibilidad y no susceptibilidad a seis antibióticos en 50 cepas de *Campylobacter* spp. procedentes del punto de la cadena avícola “granjas”.

| Antibiótico | n cepas susceptibles | % (IC 95%) | n cepas no susceptibles | % (IC 95%) |
|--------------------|-----------------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------|
| Eritromicina | 48 | 96,00 (86,28-99,51) | 2 | 4,00 (0,49-13,71) |
| Ciprofloxacina | 10 | 20,00 (10,03-33,72) | 40 | 80,00 (66,28-89,97) |
| Enrofloxacina | 9 | 18,00 (8,58-31,44) | 41 | 82,00 (68,56-91,42) |
| Ácido nalidíxico | 5 | 10,00 (3,32-21,81) | 45 | 90,00 (78,19-96,67) |
| Doxiciclina | 36 | 72,00 (57,51-83,77) | 14 | 28,00 (16,23-42,49) |
| Cloranfenicol | 49 | 98,00 (89,35-99,95) | 1 | 2,00 (0,05-10,64) |

En los aislamientos procedentes de planta de procesamiento, el segundo punto de la cadena avícola incluido en el estudio, los resultados fueron similares, con un mayor número de cepas susceptibles a la eritromicina, el cloranfenicol y la doxiciclina (Cuadro 7).

Cuadro 7. Frecuencias absolutas y relativas de susceptibilidad y no susceptibilidad a seis antibióticos en 55 cepas de *Campylobacter* spp. procedentes del punto de la cadena avícola “planta de procesamiento”.

| Antibiótico | n cepas susceptibles | % (IC 95%) | n cepas no susceptibles | % (IC 95%) |
|--------------------|-----------------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------|
| Eritromicina | 54 | 98,18 (90,28-99,95) | 1 | 1,82 (0,04-9,71) |
| Ciprofloxacina | 3 | 5,45 (1,14-15,12) | 52 | 94,55 (84,88-98,86) |
| Enrofloxacin | 3 | 5,45 (1,14-15,12) | 52 | 94,55 (84,88-98,86) |
| Ácido nalidíxico | 3 | 5,45 (1,14-15,12) | 52 | 94,55 (84,88-98,86) |
| Doxiciclina | 42 | 76,36 (62,98-86,77) | 13 | 23,64 (13,23-37,02) |
| Cloranfenicol | 54 | 98,18 (90,28-99,95) | 1 | 1,82 (0,04-9,71) |

Para los dos primeros, la prevalencia de no susceptibilidad fue de 1,82%, mientras que para la doxiciclina este valor correspondió a un 23,64%. La frecuencia de no susceptibilidad de las mismas cepas a la ciprofloxacina, la enrofloxacin y el ácido nalidíxico fue de 94,55%.

En las cepas aisladas de pollo de punto de venta, el tercer eslabón de la cadena avícola del estudio, se observó el mismo patrón de sensibilidad, con una mayor frecuencia de susceptibilidad a la eritromicina, la doxiciclina y el cloranfenicol, y una menor frecuencia de cepas susceptibles a la ciprofloxacina, la enrofloxacin y el ácido nalidíxico (Cuadro 8).

Cuadro 8. Frecuencias absolutas y relativas de susceptibilidad y no susceptibilidad a seis antibióticos en 43 cepas de *Campylobacter* spp. procedentes del punto de la cadena avícola “punto de venta”.

| Antibiótico | n cepas susceptibles | % (IC 95%) | n cepas no susceptibles | % (IC 95%) |
|--------------------|-----------------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------|
| Eritromicina | 42 | 97,67 (87,71-99,94) | 1 | 2,33 (0,06-12,29) |
| Ciprofloxacina | 8 | 18,60 (8,39-33,40) | 35 | 81,40 (66,60-91,61) |
| Enrofloxacin | 9 | 20,93 (10,04-36,04) | 34 | 79,07 (63,96-89,96) |
| Ácido nalidíxico | 5 | 11,63 (3,89-25,08) | 38 | 88,37 (74,91-96,11) |
| Doxiciclina | 33 | 76,74 (61,37-88,24) | 10 | 23,26 (11,76-38,63) |
| Cloranfenicol | 37 | 86,05 (72,06-94,70) | 6 | 13,95 (5,30-27,93) |

La prevalencia de no susceptibilidad en las cepas correspondientes a este punto fue la siguiente: para eritromicina, doxiciclina y cloranfenicol, se observaron prevalencias del 2,33%, 23,26% y 13,95%, respectivamente; en el caso de la ciprofloxacina, la enrofloxacin y el ácido nalidíxico, las frecuencias respectivas fueron de 81,40%, 79,07% y 88,37%.

Además, se encontró una asociación entre la no susceptibilidad de las cepas a la ciprofloxacina, la enrofloxacin y el cloranfenicol y el punto de la cadena avícola de procedencia de las cepas (Cuadro 9).

Cuadro 9. Resumen de medidas de asociación entre el punto de la cadena avícola de procedencia de cepas de *Campylobacter* spp. y la no susceptibilidad a cada uno de los seis antibióticos incluidos en el estudio (predictores: punto de la cadena avícola CC, CA y PV, respuesta: no susceptibilidad).

| Antibiótico | Punto de la cadena avícola ^{1,2} | | Relación de probabilidades | IC 95% | Chi Cuadrado | Valor de <i>p</i> |
|------------------|---|---------|----------------------------|------------------|--------------|-------------------|
| | Punto A | Punto B | | | | |
| Eritromicina | CC | CA | 2,2500 | 0,1977 - 25,6020 | 0,49 | 0,500 |
| | PV | CA | 1,2857 | 0,0781 - 21,1640 | | 0,861 |
| | PV | CC | 0,5714 | 0,0500 - 6,5293 | | 0,645 |
| Ciprofloxacina | CC | CA | 0,2308 | 0,0596-0,8941 | 6,24 | 0,021 |
| | PV | CA | 0,2524 | 0,0626-1,0178 | | 0,040 |
| | PV | CC | 1,0937 | 0,3887-3,0774 | | 0,865 |
| Enrofloxacin | CC | CA | 0,2628 | 0,0668-1,0335 | 6,34 | 0,040 |
| | PV | CA | 0,2179 | 0,0550- 0,8631 | | 0,019 |
| | PV | CC | 0,8293 | 0,2961-2,3222 | | 0,722 |
| Ácido nalidíxico | CC | CA | 0,5192 | 0,1175-2,2945 | 1,36 | 0,379 |
| | PV | CA | 0,4385 | 0,0987-1,9478 | | 0,270 |
| | PV | CC | 0,8444 | 0,2272-3,1380 | | 0,801 |
| Doxiciclina | CC | CA | 1,2564 | 0,5230-3,0182 | 0,36 | 0,610 |
| | PV | CA | 0,9790 | 0,3816-2,5115 | | 0,965 |
| | PV | CC | 0,7792 | 0,3047-1,9927 | | 0,601 |
| Cloranfenicol | CC | CA | 1,1020 | 0,0671-18,0983 | 7,69 | 0,946 |
| | PV | CA | 8,7568 | 1,0120-75,7741 | | 0,017 |
| | PV | CC | 7,9459 | 0,9167-68,8736 | | 0,024 |

¹ CC: Granja, CA: Planta de procesamiento, PV: Punto de venta.

²Resultados punto A respecto a punto

Para la ciprofloxacina, se determinó una asociación protectora del punto de la cadena avícola "granja" respecto al punto "planta de procesamiento" (RP=0,23 IC 95% 0,06-0,89) ($p=0,021$).

En el caso de la enrofloxacin, la procedencia de las cepas de puntos de venta mostró ser un factor protector respecto a la procedencia de plantas de procesamiento (RP=0,22 IC 95% 0,06-0,86) ($p=0,019$). Para el cloranfenicol, se halló una asociación positiva entre la no susceptibilidad de las cepas y la procedencia de puntos de venta, respecto a las plantas de procesamiento (RP=8,76 IC 95% 1,01-75,78) ($p=0,017$).

3.4. Grado de resistencia

Para determinar el grado de resistencia de cada una de las cepas se utilizó la CMI. Dado que para cada antibiótico se ensayaron cinco concentraciones diferentes, las cepas se clasificaron en seis categorías, o grados, de forma ascendente, según su CMI.

De esta manera, el Grado 1 correspondió a aquellas cepas cuya CMI estuvo en la concentración de antibiótico más baja, y el Grado 5 a las cepas cuya CMI se ubicó en la concentración más alta. El grado 6 incluyó a aquellas cepas cuyo crecimiento no fue inhibido por la concentración de antibiótico más alta. En el Cuadro 10 se muestran las frecuencias observadas para cada grado de resistencia, por cada antibiótico.

Cuadro 10. Frecuencias absolutas (%) para cada grado de resistencia según la CMI en 148 cepas de *Campylobacter* spp. a los seis antibióticos incluidos en el estudio.

| Antibiótico | Grado 1 | Grado 2 | Grado 3 | Grado 4 | Grado 5 | Grado 6 |
|--------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Eritromicina | 144 (97,30) | 0 (0) | 3 (2,03) | 1 (0,68) | 0 (0) | 0 (0) |
| Ciprofloxacina | 17 (11,49) | 4 (2,70) | 1 (0,68) | 3 (2,03) | 7 (4,73) | 116 (78,38) |
| Enrofloxacin | 21 (14,19) | 0 (0) | 0 (0) | 35 (23,65) | 58 (39,19) | 34 (22,97) |
| Ácido nalidíxico | 11 (7,43) | 2 (1,35) | 1 (0,68) | 2 (1,35) | 12 (8,11) | 120 (81,08) |
| Doxiciclina | 103 (69,59) | 8 (5,41) | 3 (2,03) | 2 (1,35) | 10 (6,76) | 22 (14,86) |
| Cloranfenicol | 117 (79,05) | 23 (15,54) | 8 (5,41) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |

En el caso de la eritromicina y el cloranfenicol, la mayoría de las cepas tuvieron una CMI baja (Grado 1), con una frecuencia de 97,30% y 79,05%, respectivamente. Para la ciprofloxacina y el ácido nalidíxico, en ese orden, un 78,38% y un 81,08% de las cepas tuvieron una CMI por encima de las concentraciones ensayadas (Grado 6). En el caso de la enrofloxacin, las cepas clasificadas en el Grado 5 fueron las más frecuentes, con un 39,19% de las cepas inhibidas solo por la concentración más alta de dicho antibiótico. Ninguna de las cepas fue clasificada dentro de las categorías Grado 5 y Grado 6 en el caso de la eritromicina, asimismo, no se hallaron cepas para estas categorías, ni de Grado 4, para el cloranfenicol.

Adicionalmente, no se halló ninguna asociación entre el grado de resistencia y el punto de la cadena avícola de procedencia de las cepas (Cuadro 11).

Cuadro 11. Resumen de medidas de asociación entre el punto de la cadena avícola de procedencia de cepas de *Campylobacter* spp. y el grado de resistencia a los seis antibióticos ensayados (predictores: punto de la cadena avícola CC, CA y PV, respuesta: grado de resistencia).

| Antibiótico | Punto de la cadena avícola ^{1,2} | | Coeficiente | Error estándar | Valor de <i>p</i> | Relación de probabilidades | IC 95% |
|------------------|---|----|-------------|----------------|-------------------|----------------------------|-------------|
| | A | B | | | | | |
| Eritromicina | CA | CC | 0,786463 | 1,23712 | 0,525 | 2,20 | 0,19 -24,81 |
| | PV | CC | 0,555080 | 1,24708 | 0,656 | 1,74 | 0,15 -20,07 |
| | PV | CA | -0,231383 | 1,42628 | 0,871 | 0,79 | 0,05 -12,99 |
| Ciprofloxacina | CA | CC | -0,904727 | 0,497644 | 0,069 | 0,40 | 0,15 -1,07 |
| | PV | CC | -0,196362 | 0,467232 | 0,674 | 0,82 | 0,33 -2,05 |
| | PV | CA | 0,708365 | 0,524203 | 0,177 | 2,03 | 0,73 - 5,67 |
| Enrofloxacin | CA | CC | -0,441253 | 0,356195 | 0,215 | 0,64 | 0,32 -1,29 |
| | PV | CC | -0,207408 | 0,377132 | 0,582 | 0,81 | 0,39 - 1,70 |
| | PV | CA | 0,233846 | 0,370359 | 0,528 | 1,26 | 0,61 - 2,61 |
| Ácido nalidíxico | CA | CC | -0,918265 | 0,542730 | 0,091 | 0,40 | 0,14 - 1,16 |
| | PV | CC | 0,0004740 | 0,484883 | 0,999 | 1,00 | 0,39 -2,59 |
| | PV | CA | 0,918739 | 0,558767 | 0,100 | 2,51 | 0,84 - 7,49 |
| Doxiciclina | CA | CC | 0,0695024 | 0,417608 | 0,868 | 1,07 | 0,47 -2,43 |
| | PV | CC | 0,0025144 | 0,441253 | 0,995 | 1,00 | 0,42 -2,38 |
| | PV | CA | -0,0669880 | 0,434925 | 0,878 | 0,94 | 0,40 - 2,19 |
| Cloranfenicol | CA | CC | -0,357302 | 0,508579 | 0,482 | 0,70 | 0,26-1,90 |
| | PV | CC | -0,711382 | 0,514593 | 0,167 | 0,49 | 0,18-1,35 |
| | PV | CA | -0,354076 | 0,471901 | 0,453 | 0,70 | 0,28-1,77 |

¹ CC: Granja, CA: Planta de procesamiento, PV: Punto de venta.

²Resultados punto A respecto a punto B.

3.5. Perfiles de sensibilidad por grupos de antibióticos

Para clasificar las cepas según su perfil de sensibilidad a cada uno de los grupos antibióticos incluidos en el estudio, toda cepa que resultara no susceptible a alguno de los antibióticos pertenecientes al grupo en cuestión, fue clasificada como no susceptible a dicho grupo.

La mayoría de las cepas analizadas resultaron no susceptibles a al menos una de las quinolonas incluidas en el estudio (ciprofloxacina, enrofloxacin y ácido nalidíxico), con una prevalencia de no susceptibilidad del 91,89% (136/148, IC 95% 86,26%-95,74%). Para los macrólidos, las tetraciclinas y los fenicoles, la prevalencia de no susceptibilidad fue de 2,70% (4/148, IC 95% 0,74%-6,77%), 25% (37/148, IC 95% 18,25%-32,77%) y 5,41% (8/148, IC 95% 2,36%-10,37%), respectivamente. Dicha información se refleja en el gráfico de la Figura 2.

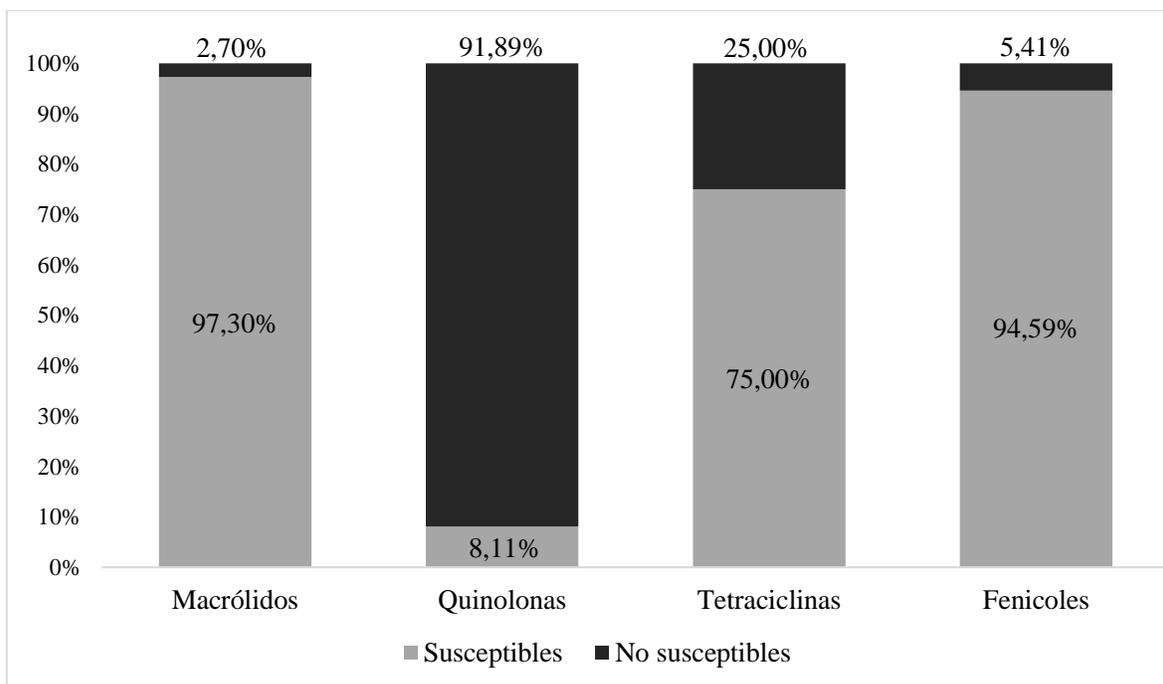


Figura 2. Porcentaje de cepas de *Campylobacter* spp. (N=148) susceptibles y no susceptibles a los cuatro grupos de antibióticos incluidos en el estudio.

En cuanto a los perfiles de sensibilidad observados, la Figura 3 muestra las frecuencias absolutas y relativas de cada uno.

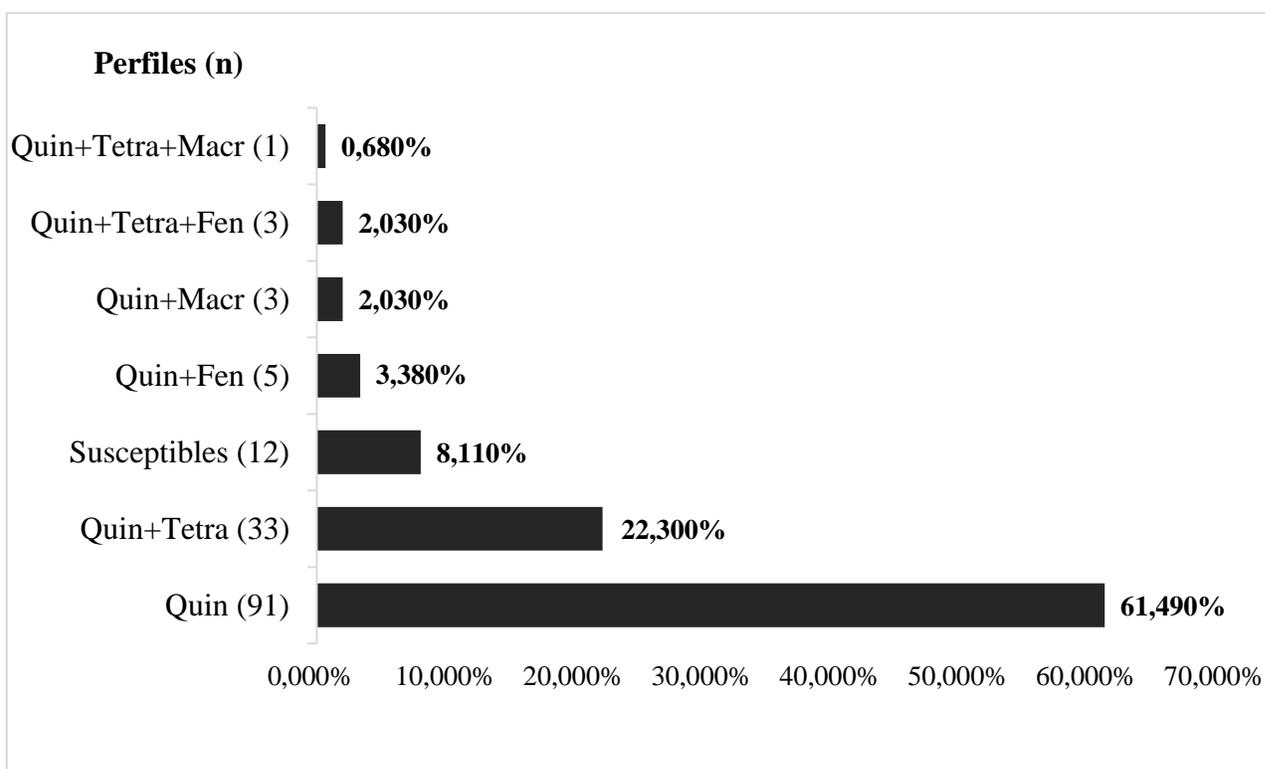


Figura 3. Frecuencia de los patrones de sensibilidad observados en cepas de *Campylobacter* spp. aisladas de tres puntos de la cadena avícola en Costa Rica.

La no susceptibilidad únicamente al grupo de las quinolonas fue el patrón observado con mayor frecuencia (61,49%), seguido por la no susceptibilidad a quinolonas y tetraciclinas, con un 22,30% de las cepas mostrando dicho perfil. Con una frecuencia considerablemente menor, el tercer patrón más observado fue la susceptibilidad a los cuatro grupos de antibióticos incluidos en el estudio, con un 8,11% de las cepas exhibiendo dicha característica, seguido de las cepas no susceptibles a las quinolonas y los fenicoles (3,38%), las cepas no susceptibles a quinolonas y macrólidos (2,03%), aquellas que mostraron no susceptibilidad a quinolonas, tetraciclinas y

fenicoles (2,03%) y finalmente las cepas no susceptibles a quinolonas, tetraciclinas y macrólidos (0,68%).

Para finalizar, las cepas no susceptibles al grupo de las quinolonas (136/148) mostraron diferentes patrones de sensibilidad (Figura 4).

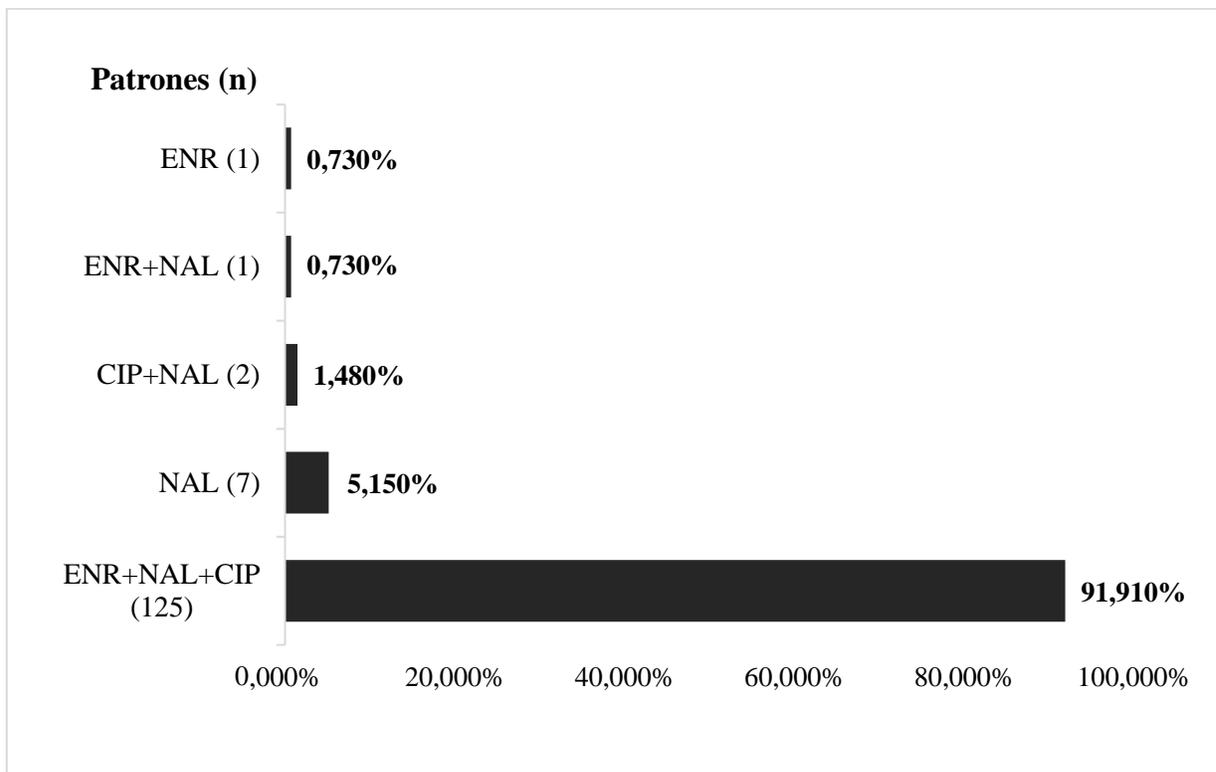


Figura 4. Frecuencia de los patrones de sensibilidad observados en las cepas de *Campylobacter* spp. no susceptibles a quinolonas, aisladas de tres puntos de la cadena avícola en Costa Rica.

La mayoría de estas cepas (91,91%), resultaron no susceptibles a los tres antibióticos analizados. Un número considerablemente menor (5,15%) resultó no susceptible únicamente al ácido nalidíxico. Un 1,48% de las cepas mostró no susceptibilidad a la ciprofloxacina y el ácido nalidíxico. Finalmente, un porcentaje menor de las cepas resultó no susceptible a la enrofloxacin y el ácido nalidíxico, o a la enrofloxacin únicamente (0,73%).

3.6. Multirresistencia

Ninguna de las cepas analizadas fue clasificada como multirresistente ante las familias de antibióticos incluidas en este estudio.

4. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos a partir del análisis de las cepas muestran, en términos generales, una alta prevalencia de no susceptibilidad a al menos uno de los antibióticos incluidos en el estudio, siendo esta dada, en su mayoría, por no susceptibilidad a las quinolonas y la doxiciclina, y en menor proporción, a la eritromicina y el cloranfenicol. Esto coincide con los hallazgos de múltiples investigaciones a nivel mundial, que evidencian niveles altos de no susceptibilidad a algunos antibióticos en cepas de *Campylobacter* spp. aisladas en distintos puntos de la cadena de producción avícola.

En Polonia, por ejemplo, se han reportado prevalencias de hasta 100% y 78,6% de resistencia a la ciprofloxacina y a la tetraciclina respectivamente, en cepas de *Campylobacter* spp. aisladas de heces de pollos de engorde (Wozniak et al. 2017). Estos resultados fueron similares a los obtenidos en otro estudio en el cual se analizaron cepas procedentes de carne y menudillos de pollo, que mostraron prevalencias de resistencia a la ciprofloxacina (97,9%) y tetraciclina (64,3%) semejantes, y niveles considerablemente inferiores de resistencia a la eritromicina (9,1%), en ese mismo país (Maćkiw et al. 2012).

De manera similar, en un estudio en China, en el que se analizaron 290 cepas de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* procedentes de heces y carcasas de pollo de engorde, todas las cepas analizadas mostraron no susceptibilidad a uno o más antibióticos. Para las cepas de *C. jejuni*, la prevalencia de resistencia a fluoroquinolonas y tetraciclinas fue superior a un 70%, mientras que un 16,3% y 14,3% resultaron resistentes al florfenicol y la eritromicina, respectivamente. En el caso de *C. coli*; sin embargo, se observó más de un 90% de cepas resistentes a fluoroquinolonas, tetraciclina y eritromicina, y un 8,5% resistentes al florfenicol (Han et al. 2016).

En Europa, datos oficiales indican que, en aislamientos procedentes de pollos de engorde y pavos, la presencia de resistencia a las quinolonas (ciprofloxacina y ácido nalidíxico) y las tetraciclinas es alta, con bajos niveles de no susceptibilidad a la eritromicina. De acuerdo con un reporte de la ECDC, en cepas de *Campylobacter jejuni* aisladas de pollo de engorde, las prevalencias de resistencia en 25 países miembros en el año 2014 fueron de 69,8%, 65,1%, 54,4% y 5,9% para la ciprofloxacina, el ácido nalidíxico, la tetraciclina y la eritromicina, respectivamente. En carne de pollo, los datos resultaron muy similares, con frecuencias de resistencia de 65,7%, 61,8%, 36,3% y 1,6%, para los mismos antibióticos (ECDC 2016).

Otros estudios que mostraron patrones semejantes de sensibilidad a los antibióticos en cepas aisladas en distintos puntos de la cadena avícola se han llevado a cabo en España (Torrallbo et al. 2015), Arabia (Senok et al. 2007), República Checa (Bardoñ et al. 2011), México (Zaidi et al. 2012) y Kenia (Nguyen et al. 2016).

Sin embargo, y a pesar de que gran parte de los estudios desarrollados muestran una tendencia semejante, no existe completa homogeneidad entre los reportes de susceptibilidad a antibióticos en cepas de *Campylobacter* spp. aisladas de pollo de engorde alrededor del mundo, sino que las frecuencias registradas en las distintas regiones geográficas han sido variables. En Noruega, por ejemplo, al analizar cepas procedentes de pollos de engorde, se hallaron bajos niveles de resistencia a oxitetraciclina (1,3%), y un 100% de susceptibilidad a las quinolonas y la eritromicina (Norström et al. 2007).

En Sudáfrica, el estudio de 56 cepas de *Campylobacter jejuni* aisladas de pollo de pollos de engorde, mostró un 91% de susceptibilidad a la ciprofloxacina, con niveles intermedios de

resistencia a la eritromicina (50%) y niveles altos de no susceptibilidad a la tetraciclina (98,2%) (Bester and Essack 2008).

Esta disparidad entre los hallazgos en distintas regiones podría responder a distintos factores. En primera instancia, no existe un protocolo que se ajuste a la variedad de condiciones que se presentan en los distintos países, que permita establecer un sistema de vigilancia homogéneo y monitorear la emergencia y diseminación de resistencia en este patógeno a nivel global (Zbrun et al. 2015). Diferencias importantes entre el origen de las muestras, las técnicas y condiciones del muestreo, y la interpretación de los resultados, podrían impedir una comparación adecuada de los diferentes estudios realizados para determinar la prevalencia de no susceptibilidad en cepas de *Campylobacter* spp. aisladas de distintos puntos de la cadena avícola (Nobile et al. 2013). No obstante, los métodos disponibles para el estudio de la sensibilidad a antibióticos producen resultados comparables entre sí, por lo que, en este sentido, no se esperaría un sesgo importante asociado a este aspecto (Luber et al. 2003).

Entre estudios con metodologías y muestreos semejantes, las profundas disimilitudes encontradas entre las frecuencias de no susceptibilidad a antibióticos podrían ser el resultado de diferencias en cuanto a las políticas regionales y nacionales que regulan el uso de antimicrobianos en piensos de animales y como tratamiento de enfermedades, particularmente en producciones avícolas (Han et al. 2016).

En el caso de las quinolonas, la emergencia de cepas no susceptibles ha sido tradicionalmente asociada con la introducción del uso de esta familia de antibióticos, particularmente la enrofloxacin, en animales de producción (Threlfall 2004). Este fenómeno, cuyo origen se remonta a la década comprendida entre 1985 y 1995, ha sido documentado en diversos países

alrededor del mundo. Endtz y colaboradores, en 1991, analizaron la susceptibilidad a las quinolonas en 883 aislamientos procedentes de humanos y aves de producción, obtenidos entre 1982 y 1989 en Holanda.

La coincidencia temporal entre la aparición de cepas resistentes a estos antibióticos y la implementación del uso de enrofloxacin en medicina veterinaria en dicho país, aunada a que la vía de transmisión de cepas de *Campylobacter* spp. hacia los seres humanos es principalmente alimentaria, sugieren una relación entre este evento y la emergencia de resistencia a quinolonas en estas bacterias (Endtz et al. 1991). Asimismo, datos de diferentes países, incluyendo Finlandia, Francia, Estados Unidos, Reino Unido, Dinamarca, Austria e Italia, muestran una coincidencia entre el aumento de la incidencia de resistencia a quinolonas en cepas aisladas de seres humanos y la aprobación del uso de este tipo de fármacos en animales (Engberg et al. 2001).

Debido a esto, y como medida para reducir la prevalencia de resistencia antimicrobiana, en algunos lugares (Australia, Francia, Estados Unidos) se ha restringido el uso de antibióticos en animales de producción. Sin embargo, no en todos los casos dicha medida ha tenido el mismo impacto.

En Australia, el uso de quinolonas en animales de producción nunca ha sido aprobado. En dicho país, estudios en cepas de *Campylobacter* spp. aisladas de pollo de engorde y de seres humanos, han mostrado ausencia de resistencia a ciprofloxacina y ácido nalidíxico en cepas procedentes del primer grupo, y niveles muy bajos de resistencia a quinolonas en aislamientos del segundo grupo, todos ellos asociados a infecciones adquiridas fuera del país (Unicomb et al. 2003; Mifflin et al. 2007).

En el estado de Louisiana, Estados Unidos, donde el uso de enrofloxacin en producciones avícolas fue prohibido en el año 2005 por la FDA, un estudio posterior a esta medida demostró una disminución en los niveles de resistencia a ciprofloxacina en cepas aisladas de pollos de engorde en granjas convencionales, alcanzando proporciones bajas (6,1%) y muy similares a aquellas encontrados en cepas procedentes de aves de granjas orgánicas (Han et al. 2009).

En contraste, en Francia, un estudio acerca de la resistencia a los antibióticos en cepas de *Campylobacter* aisladas de pollo de engorde (heces y piel de carcasas) en plantas de procesamiento (Desmonts et al. 2004), que comparó la prevalencia de no susceptibilidad en dos periodos: antes y después de la prohibición del uso de antibióticos como promotores de crecimiento en animales de producción, mostró un aumento significativo en la prevalencia de cepas de *Campylobacter coli* no susceptibles a ácido nalidíxico, fluoroquinolonas, tetraciclina y eritromicina, a pesar de la implementación de dicha medida para combatir el surgimiento y diseminación de cepas resistentes.

Las diferencias en el impacto de estas medidas usualmente están asociadas con un aumento en el uso terapéutico de antibióticos en medicina veterinaria tras la prohibición de su uso como promotores de crecimiento (DANMAP 2002; Desmonts et al. 2004), o con un inicio muy prematuro del muestreo, cuando los efectos de las medidas de mitigación aún no son perceptibles (Desmonts et al. 2004). Asimismo, existen estudios que demuestran la persistencia de cepas resistentes a quinolonas en aves y productos de granjas que han cesado el uso de estos antibióticos, incluso varios años después de haber retirado estos antibióticos de sus sistemas productivos (Price et al. 2005).

Además, la prohibición del uso de determinados antibióticos, podría producir la migración a otro tipo de principios activos, afectando la prevalencia de resistencia a otros antimicrobianos. Por ejemplo, en el estado de Louisiana, previamente mencionado, la proporción de cepas de *Campylobacter* spp. aisladas de pollos de engorde resistentes a tetraciclinas y macrólidos se ha reportado en 31,5% y 20% respectivamente (Han et al. 2009). En Australia, se ha encontrado una prevalencia de resistencia a la tetraciclina de 19,2% (Miflin et al. 2007).

Las dinámicas de la emergencia, la transmisión y la perpetuación de la resistencia, también deben considerarse al analizar las diferencias en la distribución y la prevalencia de cepas de *Campylobacter* spp. resistentes. En el caso de las quinolonas, mutantes resistentes aparecen rápidamente gracias a la actividad sinérgica entre mutaciones cromosómicas y la actividad de bombas de eflujo (Yan et al. 2006; Luangtongkum et al. 2009). Adicionalmente, la exposición a ciprofloxacina induce la expresión del gen *mfd*, que codifica para un factor de acoplamiento reparador de la transcripción, promoviendo la emergencia de cepas resistentes a estos fármacos (Han et al. 2008).

Esto implicaría que el tratamiento con quinolonas no solamente selecciona las cepas resistentes preexistentes, sino que podría ser responsable de la aparición de nuevas cepas no susceptibles durante la terapia (Luangtongkum et al. 2009). Además, algunos estudios demuestran que cepas de *Campylobacter* resistentes a las quinolonas son capaces de persistir en ambientes libres de antibióticos y mantenerse como tales (Luo et al. 2005). Esto explicaría el hallazgo de cepas resistentes en lugares que han discontinuado el uso de quinolonas, incluso años después de haber retirado los fármacos (Luangtongkum et al. 2009).

En contraste, las mutaciones espontáneas que confieren resistencia a los macrólidos aparecen con baja frecuencia en cepas de *Campylobacter* spp., además, el tratamiento con estos antibióticos en aves no produce una selección marcada de cepas resistentes incluso después de múltiples tratamientos (Lin et al. 2007). Estos hallazgos sugieren que es necesaria una exposición prolongada a este tipo de antibióticos para el desarrollo de resistencia en estas bacterias (Luangtongkum et al. 2009).

En cuanto a la persistencia, se ha observado que las cepas resistentes a la eritromicina son menos competitivas que sus pares susceptibles en el hospedador, por lo que al retirar la presión de selección se produce una rápida reducción en la prevalencia de cepas no susceptibles a este antibiótico (Luangtongkum et al. 2009).

Estas diferencias marcadas en el comportamiento de las cepas resistentes a quinolonas y macrólidos, junto con las variaciones en el uso de estos fármacos en los distintos sistemas productivos, explicarían las tendencias en cuanto a las prevalencias de resistencia a estos dos antibióticos en diferentes regiones geográficas, incluyendo las del presente estudio.

Además de los aspectos previamente mencionados, los genes y mecanismos que confieren la resistencia a distintos antibióticos en cepas de *Campylobacter* spp. también juegan un rol importante en cuanto a su epidemiología. En el caso de las quinolonas, estos fármacos actúan inhibiendo la síntesis de ADN bacteriano, al tener como blanco dos enzimas fundamentales para la replicación, transcripción, recombinación y reparación del ADN: la ADN girasa (codificada por los genes *gyrA* y *gyrB*) y la topoisomerasa IV (ausente en *Campylobacter*) (Payot et al. 2006; Alfredson and Korolik 2007; Wiczorek and Osek 2013).

En cepas de *Campylobacter* spp., la resistencia a estos antibióticos se da por mutaciones puntuales en la región determinante de resistencia a quinolonas (QRDR) de la ADN girasa A (gen *gyrA*) (Luangtongkum et al. 2009; González et al. 2013), siendo suficiente una sola mutación en esta región para reducir considerablemente la susceptibilidad a estos fármacos en dichas bacterias (Payot et al. 2006).

Múltiples modificaciones en *gyrA* han sido reportadas en la literatura (Thr86Ile, Asp90Asn, Thr86Lys, Thr86Ala, Thr86Val, y Asp90Tyr) (Wieczorek and Osek 2013). Por ejemplo, la mutación C257T del gen *gyrA*, que da origen a la sustitución Thr86Ile y confiere altos niveles de resistencia a las quinolonas (patrón observado en el 91,91% de las cepas que mostraron resistencia a las quinolonas en el presente estudio), es la más comúnmente observada en cepas resistentes.

La mutación Thr86Ala, por su parte, confiere a las bacterias altos niveles de resistencia a ácido nalidíxico, pero bajos niveles de resistencia a ciprofloxacina (Luangtongkum et al. 2009; Wieczorek and Osek 2013). Adicionalmente, en *Campylobacter* spp., es sabido que la bomba de eflujo multidroga *CmeABC* también juega un papel importante, al reducir la concentración intracelular de múltiples fármacos (quinolonas, eritromicina, tetraciclina, ampicilina y cloranfenicol) (Lin et al. 2007). Esta bomba actúa sinérgicamente con las modificaciones puntuales del gen *gyrA*, confiriendo altos niveles de resistencia a quinolonas en cepas de *C. jejuni* (Luo et al. 2003).

Esta gran variedad en las mutaciones que son capaces de conferir resistencia a las quinolonas explicaría la existencia de cepas con distintos grados de resistencia a un mismo antibiótico, y el hallazgo de cepas resistentes a varias quinolonas o solo a una de ellas, tal como se observó en la

presente investigación. En este sentido, el análisis de los genes de resistencia presentes en las cepas de *Campylobacter* analizadas es fundamental para determinar las mutaciones asociadas a los distintos perfiles de sensibilidad encontrados.

Los macrólidos, por otra parte, actúan interrumpiendo la síntesis proteica a nivel ribosomal al unirse a la subunidad 50s. En *Campylobacter* spp., la resistencia a estos antibióticos se da por modificación del blanco ribosomal, ya sea por mutaciones puntuales en el ARN ribosomal 23s, o en las proteínas ribosomales L4 y L22 (Luangtongkum et al. 2009; Wieczorek and Osek 2013). Las mutaciones A2074C, A2074G y A2075G confieren altos niveles de resistencia a los macrólidos, siendo común observar cepas no susceptibles a varios antibióticos de este grupo (resistencia cruzada) (Wieczorek and Osek 2013).

Bajos grados de resistencia a macrólidos, se observan en cepas con algunas mutaciones específicas, como la A2074T, y se han asociado con cambios a nivel de las proteínas L4 y L22, aunque el rol de estas proteínas en la conferencia de resistencia no está del todo claro (Gibreel et al. 2005; Wieczorek and Osek 2013). Determinar las mutaciones presentes en las cepas no susceptibles a eritromicina halladas en el presente estudio permitiría dilucidar la causa de las bajas CMI encontradas. Adicionalmente, cabe destacar que la bomba de eflujo *cmeABC* también juega un rol importante en la resistencia a los macrólidos en cepas de *Campylobacter* spp. (Luangtongkum et al. 2009).

Respecto a la resistencia a tetraciclinas, esta es conferida por el gen *tet(O)*, que se encuentra ampliamente distribuido en cepas de *C. coli* y *C. jejuni* aisladas de distintas especies animales (Moore et al. 2006; Luangtongkum et al. 2009; Wieczorek and Osek 2013). Dicho gen codifica para una proteína de protección ribosomal (RPP) que induce un cambio conformacional. Este

cambio permite la liberación del sitio de unión de las tetraciclinas, confiriéndole resistencia a estos fármacos de manera prolongada (Connell et al. 2003).

Adicionalmente, las bombas de eflujo, incluyendo la *cmeABC*, cumplen un rol importante en la resistencia a tetraciclinas, afectando la CMI en cepas que presentan el gen *tet(O)* (Lin et al. 2002; Jeon et al. 2011; Iovine 2013), factor que podría explicar la gran variedad en el grado de resistencia a doxiciclina encontrada en las cepas analizadas en esta investigación. El gen *tet(O)* usualmente es codificado a través de plásmidos; sin embargo, existen cepas que presentan una copia cromosómica de dicho gen (Dasti et al. 2007).

Dada la alta prevalencia de cepas resistentes a tetraciclinas en algunas regiones, incluso en sistemas productivos que han descontinuado el uso de estos fármacos, es posible que los plásmidos que contienen este gen hayan coevolucionado con *Campylobacter*, permitiéndoles mantenerse sin problemas en ausencia de presión selectiva (Luangtongkum et al. 2009).

El cloranfenicol, por su parte, actúa inhibiendo la síntesis proteica al evitar la elongación de la cadena de péptidos, uniéndose a la peptidil transferasa en la subunidad ribosomal 50s (Schlünzen et al. 2001). La resistencia a este antibiótico, muy poco común en *Campylobacter*, es conferida por un plásmido que transporta el gen *cat*. Este gen codifica para acetiltransferasa, que produce la acetilación del fármaco causando su inactivación (Wang and Taylor 1990; Schwarz et al. 2004). Además, la resistencia al cloranfenicol también está mediada por bombas de eflujo (Luangtongkum et al. 2009).

En el presente estudio no se hallaron cepas resistentes al cloranfenicol, y solo un pequeño porcentaje mostró susceptibilidad disminuida a este fármaco, por lo que, aunque muy

posiblemente se deba a la acción de las bombas de eflujo, naturalmente presentes en estas bacterias, la presencia de genes de resistencia debe ser descartada en estudios posteriores.

Además de los aspectos previamente mencionados, existen algunas diferencias en cuanto a la epidemiología y los perfiles de sensibilidad observados en especies distintas de *Campylobacter* que podrían explicar su comportamiento. Por ejemplo, mientras *C. jejuni* es más prevalente en aves y ganado bovino, *C. coli* es la especie más comúnmente aislada en cerdos (Aarestrup et al. 1997). Dada esta diferencia, es esperable que la prevalencia de resistencia a macrólidos (altamente utilizados en ganado porcino) tienda a ser más alta en cepas de *C. coli* que en aquellas de *C. jejuni* (Aarestrup et al. 1997; Lin et al. 2007).

En este estudio, la gran mayoría de las cepas correspondieron a *C. jejuni*, con muy poca proporción de cepas de *C. coli* o sin identificación a nivel de especie. Dadas estas condiciones, no es extraño que la prevalencia de no susceptibilidad a la eritromicina observada en las cepas analizadas haya sido baja.

En cuanto al panorama a nivel latinoamericano, existen estudios que muestran una tendencia similar a la mostrada por los resultados de la presente investigación, donde las cepas exhiben niveles de resistencia a las quinolonas significativamente superiores a los observados para otros antibióticos. En Chile, el análisis de cepas aisladas de pollos de engorde y seres humanos mostró una prevalencia de no susceptibilidad a la ciprofloxacina de 58,2% y 61,8% respectivamente, y un 1,8% de resistencia a la eritromicina en los aislamientos de las aves mencionadas (Gonzalez et al. 2013). En Brasil, el análisis de cepas procedentes de cloacas y carcasas de aves obtenidas en plantas de procesamiento, mostró altas proporciones de resistencia a la ciprofloxacina (94%)

y el ácido nalidíxico (90%), con niveles bajos de no susceptibilidad a la eritomicina (2%) (Sierra et al. 2016).

En Argentina, se llevó a cabo un estudio con un muestreo similar al de la presente investigación. En el mismo se analizaron cepas procedentes de cuatro puntos de la cadena avícola: ponedoras pesadas, pollos de engorde, planta de procesamiento (carcasas) y punto de venta (carne). Los resultados de dicha investigación mostraron altos niveles de resistencia al ácido nalidíxico (91,2%), la ciprofloxacina (88,2%) y la tetraciclina (60,13%), con proporciones inferiores de resistencia a eritromicina (27,7%) (Zbrun et al. 2015).

Aunque la tendencia en cuanto a perfiles de resistencia en el estudio de Zbrun y colaboradores fue similar a la hallada en la presente investigación (mayor porcentaje de no susceptibilidad a quinolonas y tetraciclinas, y menos proporción de no susceptibilidad a macrólidos), una de las principales diferencias en sus hallazgos fue la homogeneidad en los perfiles de resistencia descritos en tres de los puntos de la cadena avícola muestreados (pollos de engorde, planta de procesamiento y granja), observando diferencias significativas únicamente al comparar las proporciones de resistencia a antibióticos halladas en cepas procedentes de estos tres puntos y aquellas obtenidas de gallinas ponedoras pesadas (Zbrun et al. 2015). Esto podría relacionarse con el hecho de que, en dicha investigación, todos los muestreos fueron realizados en aves procedentes de los mismos lotes.

En este estudio, se halló una proporción significativamente menor de no susceptibilidad a la ciprofloxacina en aquellas cepas procedentes de granjas que en aquellas procedentes de plantas de procesamiento (RP=0, 2308) ($p=0,021$), y de no susceptibilidad a la enrofloxacin en cepas procedentes de punto de venta que en aquellas procedentes de plantas de procesamiento (RP=

0,2179) ($p= 0,019$). Además, se obtuvo una prevalencia significativamente mayor de no susceptibilidad al cloranfenicol en cepas procedentes de punto de venta respecto a aquellas procedentes de plantas de procesamiento (RP=8,7568) ($p=0,017$).

Estas diferencias encontradas en las cepas respecto a su procedencia según el punto de la cadena avícola, podrían estar relacionadas con varios factores. En primera instancia, el hecho de que no se haya dado seguimiento a un mismo lote para todos los muestreos correspondientes. En el caso de las cepas procedentes de granja y planta de procesamiento, si bien este aspecto fue contemplado, aquellas muestras tomadas de carne en punto de venta procedían de lotes de aves distintos.

Las implicaciones de este factor podrían depender de la medida en que difiera el manejo en cuanto al uso de antimicrobianos en las distintas granjas a nivel nacional, tal como lo indicaron Zbrun y colaboradores, que asociaron las diferencias halladas en cepas procedentes de gallinas ponedoras pesadas y aves de engorde con las variaciones en el manejo de estos animales a nivel de granja y el uso de antibióticos en dichos sistemas productivos (Zbrun et al. 2015).

Otro aspecto a considerar corresponde a los protocolos y medidas de control adoptados en las plantas de procesamiento, dada la contaminación cruzada con cepas de *Campylobacter* spp. que puede ocurrir entre distintos lotes de aves, aun cuando se tomen medidas preventivas como el uso de agua clorada y ácido peracético (Cools et al. 2005, Zumbado 2016). En las plantas muestreadas para este estudio, durante el proceso de enfriamiento de las carcasas, estas suelen mantenerse todas juntas en agua fría, favoreciendo la diseminación de las cepas (Zumbado 2016).

En este mismo sentido, algunos estudios previos han demostrado diferencias en la supervivencia de cepas de *Campylobacter* spp. resistentes y sensibles a antibióticos, lo cual podría explicar las

diferencias halladas entre las cepas procedentes de granjas y los aislamientos de carcasas en plantas de procesamiento, aun cuando proceden de los mismos lotes de aves. González y Hänninen mostraron una mejor supervivencia en agua a 4°C en cepas de *Campylobacter* ATCC33560 resistentes a la ciprofloxacina que en cepas susceptibles (González and Hänninen 2012). Previamente, ya se había sugerido que la resistencia antimicrobiana podría conferir a las cepas que la portan una mejor respuesta al estrés causado por el frío, o bien, reducir la supervivencia al cambiar su respuesta al estrés (Andersson and Hughes 2010).

Otros estudios indican que resistencia a las quinolonas en cepas de *Campylobacter* spp. también podría afectar su capacidad de colonización intestinal en las aves, aunque los resultados de dichas investigaciones han sido variables (Luo et al. 2005; Zeitouni and Kempf 2011).

Otro factor que podría estar asociado con estos hallazgos, particularmente con la diferencia entre la susceptibilidad al cloranfenicol en cepas aisladas de carcasas de plantas de procesamiento y las obtenidas de pollo de punto de venta, es la contaminación cruzada del pollo con cepas de *Campylobacter* spp. procedentes de otras matrices animales.

En la investigación realizada por Zumbado y colaboradores, se halló una asociación positiva entre la no separación física de las carnes de distintos orígenes y la presencia de *Campylobacter* spp. en la carne de pollo. Esto podría implicar que algunas de las cepas obtenidas de punto de venta en dicho estudio, y que forman parte de la presente investigación, podrían provenir de otros productos cárnicos distintos al pollo (Zumbado 2016).

En este sentido, cabe destacar que algunos estudios en cepas de *Campylobacter* obtenidas de otras especies de consumo humano han mostrado algunas diferencias en cuanto a los patrones de sensibilidad, asociadas principalmente al uso de distintos principios activos en los diferentes

sistemas productivos. Por ejemplo, en México se observaron diferencias significativas en la prevalencia de resistencia a la eritromicina al comparar cepas procedentes de cerdos (41%) y cepas de pollo (10,5%) (Zaidi et al. 2012).

En Costa Rica, además, el uso de grandes cantidades de fenicoles en sistemas productivos porcinos ha sido documentado (De la Cruz et al. 2014). No obstante, la prevalencia y los perfiles de resistencia de cepas de *Campylobacter* spp. aisladas de otras fuentes en Costa Rica no han sido investigados, por lo que más estudios se requieren para determinar la validez de dicha hipótesis.

En general, en Costa Rica existe poca información acerca de la resistencia a los antibióticos en cepas de *Campylobacter* spp. En 1984, Rodríguez y colaboradores determinaron la resistencia a tres antibióticos en cepas procedentes de pacientes con enfermedad diarreica atendidos en el Hospital Nacional de Niños. En dicho estudio, se halló resistencia a la eritromicina en un 11,6% de las cepas. Para gentamicina y ampicilina, dichos valores correspondieron a un 0% y un 2% respectivamente (Rodríguez et al. 1984).

De cualquier modo, es muy difícil establecer una comparación entre dicha información y la obtenida en la presente investigación, dadas las diferencias metodológicas y de diseño, la procedencia de las cepas y la separación temporal entre ambos estudios.

Adicionalmente, la información acerca del uso de antibióticos tanto en agricultura como en producción animal en el país es escasa. A nivel nacional, estos suelen ser utilizados de forma indiscriminada, con pobres criterios técnicos en el sector agropecuario (De la Cruz et al. 2014). En especies destinadas al consumo humano, la legislación actual demanda el cumplimiento de

periodos de retiro y descarte establecidos en el Codex Alimentarius. No obstante, en la actualidad no se exige receta médica para dispensar antibióticos de uso en animales (Amador et al. 2018).

Como consecuencia, existe un alto empleo de estos fármacos en el sector agropecuario. En un estudio, realizado en la zona de riego Arenal-Tempisque, que contempló el uso de antibióticos en medicina humana, medicina veterinaria, agricultura, acuicultura y producciones porcinas en dicha región, la oxitetraciclina, el florfenicol, la clortetraciclina, el sulfametoxazol, la eritromicina, la ciprofloxacina y la enrofloxacin fueron los antibióticos que mostraron los indicadores de peligrosidad más altos, con un uso de antibióticos de 1169-109908 gramos por hectárea por año en esa área (De la Cruz et al. 2014). Dichos datos podrían reflejar en parte lo que sucede a lo largo del territorio nacional; sin embargo, el panorama a nivel país en cuanto al uso de antibióticos no está del todo claro.

Dadas estas circunstancias, el Ministerio de Salud de Costa Rica conformó la Comisión Nacional de Lucha contra la resistencia Antimicrobiana, con el fin de establecer las pautas para combatir este problema a partir de un manejo multisectorial, utilizando como base el concepto de “Una Salud” (Amador et al. 2018). Dicha comisión presentó el Plan de Acción Nacional de Lucha Contra la Resistencia a los Antimicrobianos Costa Rica 2018-2025.

Entre los objetivos y medidas que se plantearon en dicho documento, se incluyen aspectos como educación, monitoreo e investigación, establecimiento de maniobras preventivas y de control, uso adecuado de estos medicamentos en los distintos sectores, y el financiamiento de otro tipo de mecanismos para atacar el problema (Amador et al. 2018).

A nivel mundial, el uso indiscriminado de antibióticos tanto en medicina humana como medicina veterinaria y producción animal, supone un problema serio de salud pública, al incrementar la

aparición de resistencia antimicrobiana en distintos microorganismos (OMS 2017). Debido a esto, la OMS ha publicado periódicamente listas actualizadas con los antibióticos de importancia, importancia alta e importancia crítica a nivel de medicina humana, de manera que su uso tanto en humanos como en animales debe ser sumamente controlado. En el 2017, las quinolonas (ácido nalidíxico, ciprofloxacina y enrofloxacina) y los macrólidos (eritromicina) fueron clasificados como antibióticos de importancia crítica. Por su parte, los fenicoles (cloranfenicol) y tetraciclinas (doxiciclina) se consideraron antibióticos de alta importancia (OMS 2017).

El hallazgo de cepas no susceptibles a dichos antibióticos en la presente investigación debe ser considerado, entonces, como una alerta para las autoridades encargadas del control y monitoreo del uso de dichos fármacos en producciones animales a nivel nacional.

En cuanto a la diversidad de perfiles de sensibilidad observados en este estudio, el más comúnmente encontrado fue el de no susceptibilidad únicamente a las quinolonas, presente en un 61,49% de las cepas, seguido de aquellas que no resultaron sensibles a las quinolonas y las tetraciclinas (22,3%). En contraste, un porcentaje muy bajo mostró no susceptibilidad a quinolonas y macrólidos (2,03%).

Si bien, la no susceptibilidad a antimicrobianos en cepas de *Campylobacter* es preocupante, la resistencia simultánea a macrólidos y quinolonas se considera un patrón altamente indeseable, dado que estos antibióticos constituyen la primera y segunda línea para el tratamiento de infecciones con estas bacterias en seres humanos (Engberg et al. 2001).

Por su parte, las tetraciclinas, cuyo uso para el tratamiento de infecciones con *Campylobacter* spp. se encuentra indicado, no suelen ser muy utilizadas en la práctica clínica, por lo que su uso se limita a aquellos casos en que otros regímenes terapéuticos no son eficientes (Engberg et al.

2001). Otro aspecto importante en cuanto a los hallazgos de esta investigación, fue la ausencia de cepas multirresistentes, lo cual contrasta con datos de estudios en diversas zonas geográficas donde la prevalencia de cepas con estas características es muy superior (Wang et al. 2015; Zbrun et al. 2015; Han et al. 2016; Nguyen et al. 2016; Sierra et al. 2016).

Para finalizar, los hallazgos de esta investigación podrían tener implicaciones importantes en cuanto a salud pública. Existen múltiples estudios que relacionan la resistencia a antimicrobianos en cepas de *Campylobacter* spp. en animales de producción, especialmente aves, con el hallazgo de cepas resistentes en seres humanos (Vanhoof et al. 1982; González et al. 2013).

Esta correlación ha sido ampliamente estudiada en cepas de *Campylobacter* resistentes a quinolonas aisladas de humanos. Una investigación en Minnesota concluyó que el aumento en infecciones con cepas resistentes a quinolonas adquiridas de forma doméstica en personas, se debía principalmente a la adquisición de cepas procedentes de aves, esto al hallar los mismos subtipos de cepas resistentes de *C. jejuni* en aislamientos de humanos y en productos de pollo de ese lugar. En este y otros estudios, los viajes al extranjero también constituyeron un factor de riesgo para la adquisición de cepas de *Campylobacter* resistentes (Smith et al. 1999; Unicomb et al. 2003). Investigaciones similares han relacionado este factor con el consumo de productos contaminados, en países donde la prevalencia de cepas de *Campylobacter* resistente a antibióticos es alta (Engberg et al. 2004).

Aunque el tratamiento con antibióticos en seres humanos previo al cultivo ha mostrado ser un factor relacionado con el hallazgo de cepas resistentes, su contribución en este sentido se considera muy baja (Smith et al. 1999; Engberg et al. 2004). Adicionalmente, tomando en cuenta que la transmisión persona-persona no tiene gran importancia desde el punto de vista

epidemiológico, su contribución a la diseminación de cepas resistentes no se considera relevante (Engberg et al. 2004).

En seres humanos, además de las implicaciones relativas a la dificultad para el tratamiento de infecciones, las cepas resistentes podrían tener otras consecuencias a nivel clínico. Por ejemplo, algunos estudios han mostrado mayores probabilidades de hospitalización, cuadros clínicos más prolongados, y mayor riesgo de sufrir eventos adversos (muerte o enfermedad invasiva), en personas infectadas con cepas resistentes, respecto a aquellas infectadas con cepas susceptibles de *Campylobacter* spp., aún en ausencia de tratamiento (Smith et al. 1999; Nelson et al. 2004; Helms et al. 2005; Moore et al. 2006).

En síntesis, dada la alta prevalencia de cepas de *Campylobacter* no susceptibles a antibióticos aisladas de pollo de engorde hallada en este estudio, y las características del comportamiento epidemiológico de este tipo de cepas, es fundamental establecer medidas de control y mitigación de las posibles consecuencias de este hallazgo. Las implicaciones a nivel de salud pública deben ser estudiadas para determinar el impacto de la presencia de cepas no susceptibles en aislamientos procedentes de los distintos puntos de la cadena avícola en Costa Rica sobre la salud humana.

5. CONCLUSIONES

5.1. Los perfiles de sensibilidad obtenidos mostraron la misma tendencia observada en distintos estudios a nivel global, caracterizada por una alta proporción de cepas no susceptibles a las quinolonas. No obstante, múltiples investigaciones alrededor del mundo sugieren una distribución heterogénea de las cepas de *Campylobacter* no susceptibles a los distintos antimicrobianos. Esto se debe a varios factores, por ejemplo, las políticas referentes al uso de antibióticos en cada región, la efectividad de los mecanismos establecidos para controlar el uso de estos fármacos en producciones animales, la presencia de distintas especies de *Campylobacter* en los sistemas productivos, los mecanismos y dinámicas de resistencia propios de la bacteria, el historial en cuanto al uso previo de antibióticos en una zona, las medidas de higiene en la manipulación de productos cárnicos, entre otros. Dada la naturaleza multifactorial de la resistencia a antibióticos en *Campylobacter* spp., es necesario un abordaje integral para determinar sus causas, reducir su impacto, evitar la diseminación y disminuir la prevalencia de cepas resistentes en las distintas cadenas de producción cárnica para consumo humano.

5.2. La mayor parte de las cepas analizadas mostró no susceptibilidad a al menos uno de los antibióticos incluidos en el estudio. Además, se observaron siete perfiles de sensibilidad distintos. En bacterias de este género, la no susceptibilidad simultánea a macrólidos y quinolonas constituye el patrón de sensibilidad más indeseable, dado que estos fármacos conforman la primera y segunda línea para el tratamiento de estas infecciones. Una proporción muy baja de los aislamientos analizados exhibió este perfil, no obstante, el estudio de cepas de origen humano es fundamental para establecer las pautas de tratamiento más adecuadas, en caso de ser necesario, para personas que presenten enteritis por *Campylobacter* spp. en el país.

5.3. Los resultados de esta investigación mostraron altas prevalencias de no susceptibilidad a antibióticos en cepas de *Campylobacter* spp. aisladas de los tres puntos de la cadena avícola analizados. Los niveles más altos de no susceptibilidad se observaron para los antibióticos del grupo de las quinolonas, seguidos por la doxiciclina. Además, se observó una gran variedad en los grados de resistencia (CMI) a los distintos antibióticos en las cepas analizadas. Esto podría estar relacionado con los distintos genes y mecanismos que confieren resistencia a los antimicrobianos a las cepas de *Campylobacter* spp. que los poseen. Adicionalmente, ninguno de los aislamientos fue clasificado como multirresistente.

5.4 Muy pocas diferencias fueron observadas entre los perfiles de sensibilidad de las cepas procedentes de los distintos puntos de la cadena avícola. Algunos factores asociados con prácticas de higiene en plantas de procesamiento y puntos de venta, así como diferencias en el uso de antibióticos en las distintas granjas del país, podrían relacionarse con las escasas disimilitudes encontradas. En este sentido, se requieren más estudios, incluyendo el análisis de cepas de *Campylobacter* procedentes de otras matrices animales, para establecer las causas de este fenómeno. Finalmente, no se determinó ninguna relación entre la procedencia de las cepas y su grado de resistencia.

6. RECOMENDACIONES

6.1. Dada la importancia en cuanto a salud pública de este microorganismo, los hallazgos de esta investigación, y las recomendaciones de las autoridades de salud a nivel mundial, se sugiere la implementación de un sistema de vigilancia de *Campylobacter* en personas por parte de las autoridades sanitarias del país, así como el análisis de los perfiles de resistencia a antibióticos en cepas aisladas de seres humanos.

6.2. En cuanto a medicina veterinaria y salud pública, se recomienda la implementación de medidas más rigurosas para el control del uso de antibióticos en especies de consumo humano. Adicionalmente, es necesario determinar el alcance del problema de resistencia antimicrobiana a nivel nacional y los factores asociados. El establecimiento de un sistema de vigilancia en este sentido es fundamental para disminuir las consecuencias de este fenómeno.

6.3. Existe una relación entre la resistencia a antibióticos en cepas de *Campylobacter* de origen humano y cepas aisladas de animales, principalmente pollo de engorde. En la presente investigación, se evidenció la presencia de bacterias no susceptibles en distintos puntos de la cadena avícola, lo cual constituye un riesgo de exposición para las personas que trabajan en granjas, plantas de procesamiento y puntos de venta, así como los consumidores de carne de pollo. Por este motivo, y dada la alta prevalencia de cepas de *Campylobacter* spp. demostrada en estudios previos, se recomienda extremar medidas de higiene al manipular y preparar carne, especialmente si es de origen aviar.

6.4. Respecto a las cepas que formaron parte de este estudio, se recomienda el análisis de los genes de resistencia, genotipificación y factores de virulencia de las mismas, con el objetivo de

determinar las causas de los patrones de resistencia observados y la distribución a lo largo de la cadena de producción de carne de pollo.

7. FUENTES BIBLIOGRÁFICAS

- Aarestrup FM., Nielsen EM, Madsen M & Engberg J. 1997. Antimicrobial susceptibility patterns of thermophilic *Campylobacter* spp. from humans, pigs, cattle, and broilers in Denmark. *Antimicrob Agents Chemother.* 41(10): 2244–2250.
- Alfredson D and Korolik V. 2007. Antibiotic resistance and resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *FEMS Microbiol Lett.* 277(2):123-32. doi: 10.1111/j.1574-6968.2007.00935.x.
- Allos BM. 2001. *Campylobacter jejuni* infections: Update on emerging issues and trends. *Clin Infect Dis.* 32: 1201-1206. doi: 10.1086/319760.
- Amador G, Salas D, Castro R, Arce M, González M, Alpízar B, Reyes E, Vargas E, Acedo I, Ramírez F et al. 2018. Plan de Acción Nacional de Lucha Contra la Resistencia a los Antimicrobianos Costa Rica 2018-2025. San José: Ministerio de Salud de Costa Rica.
- Andersson DI and Hughes D. 2010. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nat Rev Microbiol.* 8(4):260-71. doi: 10.1038/nrmicro2319.
- Antillón F, Odio E, García V. 1987. Presencia de *Campylobacter jejuni*, *C. coli* y *C. laridis* en pollos frescos del área Metropolitana de San José, Costa Rica. *Rev Cost Cienc Méd.* 8(1), 39-41.
- Backert F, Tegtmeyer N, Cróinín TO, Boehm M, Heimesaat MM. 2016. Human campylobacteriosis. In Klein G, editor. *Campylobacter: Features, Detection, and Prevention of Foodborne Disease*. London: Elsevier Academic Press. p. 1-25.
- Bardoň J, Kolář M, Karpíšková R, Hricová K. 2011. Prevalence of thermotolerant *Campylobacter* spp. in broilers at retail in the Czech Republic and their antibiotic resistance. *Food Control.* 22 (2011) 328-332. doi: 10.1016/j.foodcont.2010.08.001.
- Bester L and Essak S. 2008. Prevalence of antibiotic resistance in *Campylobacter* isolates from commercial poultry suppliers in KwaZulu-Natal, South Africa. *J Antimicrob Chemother.* 62(6):1298-300. doi: 10.1093/jac/dkn408.

- [CDC] U.S. Centers for Disease Control and Prevention. 2013. Antibiotic resistance threats in the United States. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention.
- [CDC] U.S. Centers for Disease Control and Prevention. [Internet]. 2017. *Campylobacter, Salmonella* led bacterial foodborne illnesses in 2016. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention. [updated: 2017 Apr 20; cited 2017 Aug 2]. Available from: <https://www.cdc.gov/media/releases/2017/p0420-campylobacter-salmonella.html>
- Chen X, Naren G, Wua C, Wanga Y, Dai L, Xia L, Luo P, Zhang Q, Shen J. 2010. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates in broilers from China. *Vet Microbiol.* 144 (2010) 133–139. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.12.035.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard (M31-A3). 3rd ed. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2013. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard (VET01-A4). 4th ed. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria (M45). 3rd ed. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals (CLSI supplement VET01-S3). 3rd ed. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Connell SR, Trieber CA, Dinos GP, Einfeldt E, Taylor DE, Nierhaus KH. 2003. Mechanism of Tet(O)-mediated tetracycline resistance. *EMBO J.* 22 (4): 945–953. Doi: 10.1093/emboj/cdg093.

- Cools I, Uyttendaele M, Cerpentier J, D'Haese E, Nelis HJ, Debevere J. 2005. Persistence of *Campylobacter jejuni* on surfaces in a processing environment and on cutting boards. *Lett Appl Microbiol.* 40(6):418-23. doi: 10.1111/j.1472-765X.2005.01694.x.
- [DANMAP] Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme. 2002. Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. Copenhagen: Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme.
- Dasti JI, Gross U, Pohl S, Lugert R, Weig M, Schmidt-Ott R. 2007. Role of the plasmid-encoded tet(O) gene in tetracycline-resistant clinical isolates of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J Med Microbiol.* 56(Pt 6):833-7. doi: 10.1099/jmm.0.47103-0
- De la Cruz E, Fournier M, García F, Molina A, Chavarría G, Alfaro M, Ramírez F, Rodríguez C. 2014. Hazard prioritization and risk characterization of antibiotics in an irrigated Costa Rican region used for intensive crop, livestock and aquaculture farming. *J Environ Biol.* 35: 85-98.
- Desmonts MH, Dufour-Gesbert F, Avrain L, Kempf I. 2004. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* strains isolated from french broilers before and after antimicrobial growth promoter bans. *J Antimicrob Chemother.* 54(6):1025-30. doi: 10.1093/jac/dkh473.
- [ECDC] European Centre for Disease Prevention and Control. 2009. The bacterial challenge: time to react. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control.
- [ECDC] European Centre for Disease Prevention and Control. 2016. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control.
- [EFSA] European Food Safety Authority. 2014. EFSA explains zoonotic diseases: *Campylobacter*. Parma: European Food Safety Authority.
- Endtz H, Ruijs G, van Klingeren B, Jansen W, van der Reyden T, Morton R. 1991. Quinolone resistance in *Campylobacter* isolated from man and poultry following the introduction of

- fluoroquinolones in veterinary medicine. *J Antimicrob Chemother.* 27: 199-208. doi 10.1093/jac/27.2.199.
- Engberg J, Aarestrup FM, Taylor DE., Gerner-Smidt P, Nachamkin I. 2001. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerg Infect Dis.* 7(1): 24-34. doi: 10.3201/eid0701.700024.
- Engberg J, Neimann J, Nielsen EM, Aarestrup FM, Fussing V. 2004. Quinolone-resistant *Campylobacter* infections: risk factors and clinical consequences. *Emerg Infect Dis.* 10(6): 1056–1063. doi: 10.3201/eid1006.030669.
- [FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2016. The FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance 2016-2020. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Farace M and Viñas M. 2007. Manual de Procedimientos para el aislamiento y caracterización de *Campylobacter* spp. Argentina: Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv para América del Sur.
- [FDA-NARMS] U.S. Food and Drug Administration - National Antimicrobial Resistance Monitoring System. 2011. Executive Report. Rockville (MD): Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. 121 p.
- Fernández H. 2011. *Campylobacter* y campylobacteriosis: una mirada desde América del Sur. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 28(1): 121-27.
- Gibreel A, Kos VN, Keelan M, Trieber CA, Levesque S, Michaud S, Taylor DE. 2005. Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*: molecular mechanism and stability of the resistance phenotype. *Antimicrob Agents Chemother.* 49(7):2753-9. doi: 10.1128/AAC.49.7.2753-2759.2005.
- González-Hein G, Cordero N, García P y Figueroa G. 2013. Análisis molecular de la resistencia a fluoroquinolonas y macrólidos en aislados de *Campylobacter jejuni* de humanos, bovinos y carne de ave. *Rev Chilena Infectol.* 30 (2): 135-139. doi: 10.4067/S0716-10182013000200003.

- González M and Hänninen ML. 2012. Effect of temperature and antimicrobial resistance on survival of *Campylobacter jejuni* in well water: application of the Weibull model. *J Appl Microbiol.* 2012, 113(2):284-93. doi: 10.1111/j.1365-2672.2012.05342.x.
- Goossens H, De Mol P, Coignau H, Levy J, Grados O, Ghysels, Innocent H, Butzler JP. 1985. Comparative in vitro activities of aztreonam, ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, HR 810 (a new cephalosporin), RU 28965 (a new macrolide), and other agents against enteropathogens. *Antimicrob Agents Chemother.* 27, 388-92. doi: 10.1128/AAC.27.3.388.
- Han F, Lestari S, Pu S, Ge B. 2009. Prevalence and antimicrobial resistance among *Campylobacter* spp. in Louisiana retail chickens after the enrofloxacin ban. *Foodborne Pathog Dis.* 6(2):163-71. doi: 10.1089/fpd.2008.0171.
- Han J, Sahin O, Barton Y, Zhang Q. 2008. Key role of Mfd in the development of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni*. *PLoS Pathog.* 4(6):e1000083. doi: 10.1371/journal.ppat.1000083.
- Han X, Zhu D, Lai H, Zeng H, Zhou K, Zou L, Congming W., Han G., Liu S. 2016. Prevalence, antimicrobial resistance profiling and genetic diversity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from broilers at slaughter in China. *Food Control.* 69 (2016): 160-170. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.04.051.
- Helms M, Simonsen J, Olsen KE, Mølbak K. 2005. Adverse health events associated with antimicrobial drug resistance in *Campylobacter* species: a registry-based cohort study. *J Infect Dis.* 191(7):1050-5. doi: 10.1086/428453.
- Inglis G, Morck D, McAllister T, Entz T, Olson M, Yanke L, Read R. 2006. Temporal prevalence of antimicrobial resistance in *Campylobacter* spp. from beef cattle in Alberta feedlots. *Appl Environ Microbiol.* 72(6): 4088-4095. doi: 10.1128/AEM.02830-05.
- Iovine NM. 2013. Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*. *Virulence.* 1;4(3):230-40. doi: 10.4161/viru.23753.

- [ITFAR] Interagency Task Force on Antimicrobial Resistance. 2011. A public health action plan to combat antimicrobial resistance. Washington D.C.: Center for Disease Dynamics, Economics & Policy.
- Jeon B, Wang Y, Hao H, Barton YW, Zhang Q. 2011. Contribution of CmeG to antibiotic and oxidative stress resistance in *Campylobacter jejuni*. *J Antimicrob Chemother.* 2011. 66(1):79-85. doi: 10.1093/jac/dkq418.
- Kaakoush N, Castaño N, Mitchell H, Mana S. 2015. Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. *Clin Microbiol Rev.* 28(3): 687-720. doi: 10.1128/CMR.00006-15.
- Lin J, Michel LO, Zhang Q. 2002. CmeABC functions as a multidrug efflux system in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrob Agents Chemother.* 46 (7):2124-31. doi: 10.1128/AAC.46.7.2124-2131.2002.
- Lin J, Yan M, Sahin O, Pereira S, Chang Y, Zhang Q. 2007. Effect of macrolide usage on emergence of erythromycin-resistant *Campylobacter* isolates in chickens. *Antimicrob Agents Chemother.* 51(5):1678-86. doi: 10.1128/AAC.01411-06.
- Luangtongkum T, Jeon B, Han J, Plummer P, Logue C, Zhang Q. 2009. Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence. *Future Microbiol.* 4 (2): 189-200. doi: 10.2217/17460913.4.2.189.
- Luber P, Bartelt E, Genschow E., Wagner J., Hahn H. 2003. Comparison of broth microdilution, E test, and agar dilution methods for antibiotic susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J Clin Microbiol.* 41(3):1062-8. doi: 10.1128/JCM.41.3.1062-1068.2003.
- Luo N, Sahin O, Lin J, Michel LO, Zhang Q. 2003. In vivo selection of *Campylobacter* isolates with high levels of fluoroquinolone resistance associated with *gyrA* mutations and the function of the CmeABC efflux pump. *Antimicrob Agents Chemother.* 47(1):390-4. doi: 10.1128/AAC.47.1.390-394.2003.

- Luo N, Pereira S, Sahin O, Lin J, Huang S, Michel L, Zhang Q. 2005. Enhanced in vivo fitness of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter jejuni* in the absence of antibiotic selection pressure. *Proc Natl Acad Sci U S A*.102(3):541-6. doi: 10.1073/pnas.0408966102.
- Maćkiw E, Korsak D, Rzewuska K, Tomczuk K, Rozyne E. 2012. Antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from food in Poland. *Food Control* 23 (2012): 297-301. Doi: 10.1016/j.foodcont.2011.08.022.
- Man S. 2011. The clinical importance of emerging *Campylobacter* species. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 8:669 –685. doi: 10.1038/nrgastro.2011.191.
- Maragakis LL, Perencevich EN, Cosgrove SE. 2008. Clinical and economic burden of antimicrobial resistance. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 6(5):751-63. doi: 10.1586/14787210.6.5.751.
- Mifflin J, Templeton J, Blackall P. 2007. Antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from poultry in the South-East Queensland region. *J Antimicrob Chemother.* 59(4):775-8. doi: 10.1093/jac/dkm024
- Moore JE, Barton MD, Blair IS, Corcoran D, Dooley JS, Fanning S, Kempf I, Lastovica AJ, Lowery CJ, Matsuda M et al. 2006. The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*. *Microbes Infect.* 8(7):1955-66. doi: 10.1016/j.micinf.2005.12.030.
- [NARMS] National Antimicrobial Resistance Monitoring System for Enteric Bacteria. [Internet]. 2016. Glossary of Terms Related to Antibiotic Resistance. Atlanta (GA): U.S. Centers for Disease Control and Prevention. [updated: 2016 Jun 7; cited 2017 Aug 5]. Available from: <https://www.cdc.gov/narms/resources/glossary.html>
- Nelson JM, Smith KE, Vugia DJ, Rabatsky-Ehr T, Segler SD, Kassenborg HD, Zansky SM, Joyce K, Marano N, Hoekstra RM et al. 2004. Prolonged diarrhea due to ciprofloxacin-resistant *Campylobacter* infection. *J Infect Dis.* 190(6):1150-7. doi: 10.1086/423282.
- Ngulukun SS. 2016. Taxonomy and physiological characteristics of *Campylobacter* spp. In Klein G, editor. *Campylobacter: Features, Detection, and Prevention of Foodborne Disease*. London: Elsevier Academic Press. p. 41-60.

- Nguyen TN, Hotzel H, Njeru J, Mwituria J, El-Adawy H, Tomaso H, Neubauer H, Hafez HM. 2016. Antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates from small scale and backyard chicken in Kenya. *Gut Pathog.* 8(1):39. doi: 10.1186/s13099-016-0121-5.
- Nobile C, Costantino R, Bianco A, Pileggi C, Pavia M. 2013. Prevalence and pattern of antibiotic resistance of *Campylobacter* spp. in poultry meat in Southern Italy. *Food Control.* 32 (2013): 715-718. doi: 10.1016/j.foodcont.2013.02.011.
- Norström M, Johnsen G, Hofshagen M, Tharaldsen H, Kruse H. 2007. Antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* from broilers and Broiler house environments in Norway. *J Food Prot.* 70 (3): 736- 738. doi: 10.4315/0362-028X-70.3.736.
- [OIE] Organización Mundial de Sanidad Animal. 2017. Código sanitario para los animales terrestres. 26^a ed. Paris: Organización Mundial de Sanidad Animal.
- Okeke IN, Laxminarayan R, Bhutta ZA, Duse AG, Jenkins P, O'Brien TF, Pablos-Mendez, Klugman KP. 2005. Antimicrobial resistance in developing countries. Part I: recent trends and current status. *Lancet Infect Dis.* 5(8):481-93. doi: 10.1016/S1473-3099(05)70189-4.
- Olson C, Ethelberg S, van Pelt W, Pelt RV. 2008. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in industrialized nations. In Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ, editors. *Campylobacter*, 3rd ed. Washington (DC): ASM Press. p. 163-189.
- [OMS] Organización Mundial de la Salud. 2013. The global view of Campylobacteriosis: Report of expert consultation. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
- [OMS] Organización Mundial de la Salud. 2015. Antimicrobial resistance: draft global action plan on antimicrobial resistance. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
- [OMS] Organización Mundial de la Salud. [Internet]. 2016. Antimicrobial resistance. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. [cited 2017 Aug 2]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>

- [OMS] Organización Mundial de la Salud. 2017. Sistema mundial de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos: Manual para la primera fase de implementación. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
- [OMS] Organización Mundial de la Salud. 2017. Critically important antimicrobials for human medicine: 5th revision 2016. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
- [OMS] Organización Mundial de la Salud, [OIE] Organización Mundial de Sanidad Animal, [FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2017. Integrated surveillance of antimicrobial resistance in foodborne bacteria: application of a one health approach. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
- [OMS] Organización Mundial de la Salud. [Internet]. 2017. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. [updated: 2017 Feb 27; cited 2017 Aug 5]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/es/>
- [OMS] Organización Mundial de la Salud. [Internet]. 2017. *Campylobacter*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. [updated: 2017 Sep; cited 2017 Oct 2]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/es/>
- O'Neill J. 2014. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. London (UK): HM Government.
- Payot S, Bolla JM, Corcoran D, Fanning S, Mégraud F, Zhang Q. 2006. Mechanisms of fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter* spp. *Microbes Infect.* 8(7):1967-71. doi: 10.1016/j.micinf.2005.12.032.
- Price L, Johnson E, Vailes R, Silbergeld E. 2005. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* isolates from conventional and antibiotic-free chicken products. *Environ Health Perspect.* (5):557-60. doi: 10.1289/ehp.7647.
- Rodríguez R, Rivera P, Herrera M. 1984. Sensibilidad del *Campylobacter fetus* ssp *jejuni* a tres antibióticos. *Rev. Med. Hosp. Nal. Niños Costa Rica.* 19 (1): 19-24.

- Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. 2011. Foodborne illness acquired in the United States: major pathogens. *Emerg Infect Dis.* 17(1): 7–15. doi: 10.3201/eid1701.P11101.
- Schlünzen F, Zarivach R, Harms J, Bashan A, Tocilj A, Albrecht R, Yonath A, Franceschi F. 2001. Structural basis for the interaction of antibiotics with the peptidyl transferase centre in eubacteria. *Nature.* 2001. 413(6858):814-21. doi: 10.1038/35101544.
- Schwarz S, Kehrenberg C, Doublet B, Cloeckaert A. 2004. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiol Rev.* 28(5):519-42. doi: 10.1016/j.femsre.2004.04.001.
- Schwarz S, Silley P, Simjee S. 2010. Editorial: Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *J Antimicrob Chemother.* 65: 601–4. doi: 10.1093/jac/dkq037.
- Segreti, J, Nelson J, Goodman L, Kaplan R, Trenholme G. 1989. In vitro activities of lomefloxacin and temafloxacin against pathogens causing diarrhea. *Antimicrob Agents Chemother.* 33:1385-7. doi: 10.1128/AAC.33.8.1385.
- Senok A, Yousif A, Mazi W, Sharaf E, Bindayna K, Elnima A, Botta G. 2007. Pattern of antibiotic susceptibility in *Campylobacter jejuni* isolates of human and poultry origin. *Jpn J Infect Dis.* 60(1):1-4.
- Shin E, Hong H, Oh Y, Lee Y. 2015. First report and molecular characterization of a *Campylobacter jejuni* isolate with extensive drug resistance from a travel-associated human case. *Antimicrob Agents Chemother.* 59(10): 6670-6672. doi:10.1128/AAC.01395-15.
- Sierra-Arguello YM, Perdoncini G, Morgan RB, Salle CT, Moraes HL, Gomes MJ, do Nascimento VP. 2016. Fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* isolated from broiler slaughterhouses in southern Brazil. *Avian Pathol.* 45(1):66-72. doi: 10.1080/03079457.2015.1120272.

- Silva J, Leite D, Fernandes M, Mena C, Gibbs PA, Teixeira P. 2011. *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. *Front Microbiol.* 2: 200. doi: 10.3389/fmicb.2011.00200.
- Smith J and Fratamico P. 2010. Fluoroquinolone resistance in *Campylobacter*. *J. Food Prot.* 73 (6): 1141- 1152
- Smith KE, Besser JM, Hedberg CW, Leano FT, Bender JB, Wicklund JH, Johnson BP, Moore KA, Osterholm MT. 1999. Quinolone-resistant *Campylobacter jejuni* infections in Minnesota, 1992-1998. Investigation Team. *N Engl J Med.* 340(20):1525-32. doi: 10.1056/NEJM199905203402001.
- Spiegel M. and Stephens L. 2009. *Estadística.* 4^{ta} ed. Mexico (DF): McGraw Hill.
- Taylor J, Hafner M, Yerushalmi E, Smith R, Bellasio J, Vardavas R, Bienkowska T, Rubin J. 2014. Estimating the economic costs of antimicrobial resistance: Model and Results. United States: RAND Corporation.
- Threlfall J. 2004. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* infections and animal drug use. *Int J Infect Dis.* 8 (2004): 190—192
- Torrallbo A, Borge C, Garca-Bocanegra I, Meric G, Perea A, Carbonero A. 2015. Higher resistance of *Campylobacter coli* compared to *Campylobacter jejuni* at chicken slaughterhouse. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 39 (2015): 47–52. doi: 10.1016/j.cimid.2015.02.003.
- Unicomb L, Ferguson J, Riley T, Collignon P. 2003. Fluoroquinolone resistance in *Campylobacter* absent from isolates, Australia. *Emerg Infect Dis.* 9(11): 1482–1483.
- Vanhoof R, Goossens H, Coignau H, Stas G, Butzler JP. 1982. Susceptibility pattern of *Campylobacter jejuni* from human and animal origins to different antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 21(6):990-2. doi: 10.1128/AAC.21.6.990.
- Ventola I. 2015. The antibiotic resistance crisis, part 1: causes and threats. *P T.* 40(4):277-83.
- Vlieghe E, Jacobs J, Esbroeck M, Koole O, Van Gompel A. 2008. Trends of norfloxacin and erythromycin resistance of *Campylobacter jejuni/Campylobacter coli* isolates recovered

- from international travelers, 1994 to 2006. *J Travel Med.* 15: 419–425. doi: 10.1111/j.1708-8305.2008.00236.x.
- Wang Y and Taylor DE. 1990. Chloramphenicol resistance in *Campylobacter coli*: nucleotide sequence, expression, and cloning vector construction. *Gene.* 94(1):23-8. doi: oi.org/10.1016/0378-1119(90)90463-2.
- Wang Y, Dong Y, Deng F, Liu D, Yao H, Zhang Q, Shen J, Liu Z, Gao Y, Wu C et al. 2015. Species shift and multidrug resistance of *Campylobacter* from chicken and swine, China, 2008-14. *J Antimicrob Chemother.* 71(3):666-9. doi: 10.1093/jac/dkv382.
- Wieczorek K and Osek J. 2013. Antimicrobial resistance mechanisms among *Campylobacter*. *BioMed Res Int.* 2013: 1-12. doi: 10.1155/2013/340605.
- Wozniak A, Bugła-Płoskon G, Kielsznia A, Korzekwa K, Tobiasz A, Korzeniowska-Kowal A, Wieliczko A. 2017. High prevalence of resistance to fluoroquinolones and tetracycline *Campylobacter* spp. isolated from poultry in Poland. *Microb Drug Resist.* 00 (00): 1-9. doi: 10.1089/mdr.2016.0249.
- Wright C. [Internet]. 2010. La industria avícola costarricense. Rockford (IL): Watt Global Media. [updated: 2010 Dec 4; cited 2017 Aug 2]. Available from: <http://www.wattagnet.com/articles/5853-la-industria-avicola-costarricense>
- Yan M, Sahin O, Lin J, Zhang Q. 2006. Role of the CmeABC efflux pump in the emergence of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* under selection pressure. *J Antimicrob Chemother.* 58(6):1154-9. doi: 10.1093/jac/dkl412.
- Zaidi M, McDermott P, Campos F, Chim R, Leon M, Vazquez G, Figueroa G, Lopez E, Contreras J, Estrada-Garcia T. 2012. Antimicrobial-resistant *Campylobacter* in the food chain in Mexico. *Foodborne Pathog Dis.* 9(9):841-7. doi: 10.1089/fpd.2012.1127.
- Zbrun MV, Olivero C, Romero-Scharpen A, Rossler E, Soto LP, Astesana DM, Blajman JE, Berisvil A, Signorini ML, Frizzo LS. 2015. Antimicrobial resistance in thermotolerant *Campylobacter* isolated from different stages of the poultry meat supply chain in Argentina. *Food Control.* 57:136-41. doi: 10.1016/j.foodcont.2015.03.045.

Zeitouni S and Kempf I. 2011. Fitness cost of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni*. *Microb Drug Resist.* 17(2):171-9. doi: 10.1089/mdr.2010.0139.

Zumbado L. 2016. Prevalencia y especies de *Campylobacter* spp. en pollo de engorde, determinados mediante PCR, y factores asociados a la contaminación por esta bacteria en tres niveles de la cadena avícola de Costa Rica. Tesis de Maestría. Costa Rica: Universidad Nacional.